

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

**BOGDAN DEMCZUK JUNIOR**

**ESTABILIDADE E APLICAÇÃO DO CORANTE DE URUCUM NO ESTADO DO  
PARANÁ**

**CURITIBA**

**2012**

**BOGDAN DEMCZUK JUNIOR**

**ESTABILIDADE E APLICAÇÃO DO CORANTE DE URUCUM NO ESTADO DO  
PARANÁ**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Rosemary Hoffmann Ribani

**CURITIBA**

**2012**

Demczuk Junior, Bogdan  
Estabilidade e aplicação do corante de urucum no estado do Paraná  
/ Bogdan Demczuk Junior. – Curitiba, 2012.  
132 f. : il.; graf., tab.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de  
Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de  
Alimentos.

Orientadora: Rosemary Hoffmann Ribani

1. Urucuzeiro - Corantes em alimentos. 2. Carotenóides. I. Ribani,  
Rosemary Hoffmann. II. Título.

CDD 664.062

**BOGDAN DEMCZUK JR.**

**ESTABILIDADE E APLICAÇÃO DO CORANTE DE URUCUM NO  
ESTADO DO PARANÁ**

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de  
Doutor no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de  
Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão  
formada pelos professores:



Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. ROSEMARY HOFFMANN RIBANI  
Setor de Tecnologia, UFPR



Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. EVELYN DE SOUZA OLIVEIRA LOPES  
Faculdade de Farmácia, UFMG



Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. ROBERTA LETÍCIA KRUGER  
Campus Universitário Cederj, UNICENTRO



Prof. Dr. CHARLES WINDSON ISIDORO HAMINIUK  
Campus Campo Mourão, UTFPR



Prof. Dr. RENATO JOÃO SOSSELA DE FREITAS  
Setor de Tecnologia, UFPR

Curitiba, 28 de setembro de 2012.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela saúde, inspiração e serenidade.

Aos meus pais, pelo exemplo, pela paciência, pelo amor e incentivo. À minha irmã Angélica e a toda família, meu maior tesouro.

À professora orientadora, Dr.<sup>a</sup> Rosemary Hoffmann Ribani, pelo incentivo, paciência, pelos ensinamentos, pela confiança e amizade, minha profunda gratidão.

À querida Neusa Gomes de Almeida Rücker, pela acolhida carinhosa, pelo exemplo de simplicidade e dedicação.

Ao co-orientador, Prof. Dr. Juarez de Souza Oliveira, pela amizade e pela paciência com as quais dividiu todo seu conhecimento e experiência.

Aos professores membros da banca examinadora, por terem aceitado o convite para contribuir valiosamente com o trabalho.

Ao Prof. Dr. Alexandre Knesebeck, pela brilhante orientação na monitoria REUNI com a disciplina de Fenômenos de Transporte I do curso de Engenharia Química da UFPR.

À amiga do peito, Dr.<sup>a</sup> Dayane Rosalyn Izidoro, pela amizade verdadeira, pelo incentivo, pelo ombro amigo e pelas doses do melhor remédio, o bom humor.

À Dr.<sup>a</sup> Sônia Cachoeira Stertz, pelo apoio e pela amizade.

Às estagiárias Karlla, Alessandra Nakamura, Ana Carolina Dultra e Raquel Pazini, pelo importante suporte no desenvolvimento do trabalho.

Aos pesquisadores do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) de Campinas, Dr. Paulo Roberto Nogueira Carvalho e Ms. Marta Gomes da Silva, pelas informações sobre metodologias.

À Dr.<sup>a</sup> Nice Kaminari, do Laboratório de Eletroquímica Aplicada da UFPR, pela boa vontade no empréstimo da sala climatizada.

Ao Dr. Marcelo Ribani, do Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR), pelo suporte nas análises cromatográficas.

Aos técnicos dos laboratórios vinculados à Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da UFPR, Marcelo Zadorecki, Ivan Ricardo de Barros, Patrícia Kanczewski Iwankiw e Maria Iverly dos Santos Rosa, pela amizade, paciência e auxílio no desenvolvimento do trabalho. Sem a ajuda de vocês este trabalho não

seria o mesmo!

Ao Sr. Tércio Alves e à empresa Paschoini Agro Ltda., pelo fornecimento do farelo de semente de urucum.

Aos produtores de urucum do Noroeste do Paraná, especialmente ao Sr. Leonildo Zarantonelli.

À Emater de Paranaity e à Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Paraná, especialmente ao Departamento de Economia Rural (DERAL).

Ao Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos (CEPPA) da UFPR, pelo fornecimento da água ultra-pura. Muito obrigado ao Eriel Forville de Andrade e à Janaína Vicari de Lima.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR.

A todos os professores do Departamento de Engenharia de Alimentos (DEALI) da UNICENTRO, pela amizade e colaboração.

A TODOS os amigos do curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da UFPR, pela amizade e por dividirem comigo os bons momentos e tornarem ainda mais agradáveis as horas de trabalho.

Ao secretário da Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Paulo Roberto Krainski, pela amizade e competência.

À CAPES/REUNI, pelo apoio financeiro.

“Ninguém disse que era fácil”

The Scientist (Coldplay)

“Alguns traziam uns ouriços verdes, de árvores, que na cor queriam parecer de castanheiras, embora fossem muito mais pequenos. E estavam cheios de uns grãos vermelhos, pequeninos que, esmagando-se entre os dedos, se desfaziam na tinta muito vermelha de que andavam tingidos. E quanto mais se molhavam, tanto mais vermelhos ficavam.”

Trecho da carta de Pero Vaz de Caminha, 1º de maio de 1500.



## RESUMO GERAL

A cor dos alimentos é o primeiro atributo avaliado pelo consumidor. Por isso, há a preocupação da indústria de alimentos em adicionar corantes para tornar um produto mais atraente. Entre os corantes utilizados, o urucum é uma das matérias-primas que permite a obtenção de diversos tipos de pigmentos naturais. **Capítulo 1.** O corante de urucum é extraído da camada externa das sementes de *Bixa orellana* L. por imersão em solução alcalina, óleo vegetal ou solventes orgânicos. Além das preparações comerciais, mais da metade das sementes produzidas no Brasil são usadas no preparo do colorífico, a partir da mistura do pigmento ou da semente triturada com farinha de milho, óleo vegetal e sal. Além do principal pigmento do urucum, o carotenóide bixina, os grãos possuem outros componentes, como o geranilgeraniol, que apresenta importantes propriedades farmacológicas. **Capítulo 2.** A variabilidade do urucum é influenciada por condições de pós-colheita e processamento das sementes, além das diferentes cultivares. Neste capítulo foram comparadas características físicas (atividade de água, cor instrumental, impurezas, densidade e volume médio) e químicas (umidade, bixina, lipídios e geranilgeraniol) de sementes de cultivares nominadas por “Comum” frente à cultivar “Piave” produzidas no Paraná. Os resultados podem ser usados como parâmetro para pagamento diferenciado a produtores de sementes de melhor qualidade e na obtenção de corantes específicos, incentivando e melhorando a produção e exploração paranaense do urucum. **Capítulo 3.** Na análise do pigmento por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, há a necessidade de padrões disponíveis com alta pureza e estabilidade. O objetivo deste capítulo foi comparar duas metodologias disponíveis em literatura para isolamento de um padrão cromatográfico de bixina de elevada pureza e estudar seu comportamento durante armazenagem quando imersos ou não em etanol e sob diferentes condições de temperatura por 90 dias. As amostras que não sofreram imersão em etanol apresentaram degradação de 23% a 74% do teor inicial de bixina. O padrão imerso em etanol foi mantido sem alterações até 45 dias sob congelamento. A temperatura de armazenamento não exerceu influência significativa na concentração do pigmento obtido. **Capítulo 4.** A industrialização do urucum gera em média 96% de resíduos, que depois de secos e triturados podem ser reutilizados. O objetivo deste capítulo foi caracterizar o farelo de semente de urucum com relação às propriedades físicas, químicas e funcionais através da determinação do diâmetro médio das partículas, capacidade de retenção de água, capacidade de retenção de óleo, capacidade de absorção de molécula orgânica, parâmetros colorimétricos, composição química e teor de bixina. O farelo apresentou teores consideráveis de potássio, fósforo e magnésio. As diferenças entre os parâmetros avaliados evidenciam uma necessidade de maior padronização do produto, de forma a garantir um maior valor agregado. **Capítulo 5.** Este capítulo teve como objetivo estudar o comportamento higroscópico do farelo de semente de urucum a 25 °C e 35 °C. O modelo de Kühn ajustou-se adequadamente aos dados de equilíbrio de umidade e as alterações no farelo foram significativas em 35 °C e umidade relativa acima de 68%.

Palavras-chave: *Bixa orellana*, bixina, CLAE, estabilidade, subproduto

## ABSTRACT

Food color is the first attribute evaluated by the consumer. Therefore, the food industry is concerned about the use of colorants to make a product more attractive. Annatto is a raw material that allows the obtaining a large amount of natural pigments. **Chapter 1.** The annatto dye is extracted from the outer layer of *Bixa orellana* L. seeds by immersion in alkaline solution, vegetable oil or organic solvents. In addition to the commercial preparations, a large amount of brazilian seeds is used to prepare "colorífico", a spice obtained from the mixture of pigment or grinded seeds with corn flour, vegetable oil and salt. Besides the bixin carotenoid, the seeds presents other components such as geranylgeraniol, with important pharmacological properties. **Chapter 2.** The annatto seeds variability is influenced by conditions of post-harvest processing and the differences between cultivars. The aim of this study was compare the physical (water activity, instrumental color, impurities, density and average volume) and chemical (moisture, bixin, fat and geranylgeraniol) properties of annatto seeds from cultivars "Comum" and "Piave" produced in Paraná state. The results can be used in a exploitation of annatto production in Paraná state, as differentiated payment to best quality seeds producers and guidance in obtaining specific dyes by the industry. **Chapter 3.** The use of High Performance Liquid Chromatography is more suitable to bixin determination, despite the need for available standards with high purity and stability. The aim of this study was to compare two refereed methods for the isolation of a high purity bixin chromatographic standard and study their behavior when stored immersed in ethanol or not and under different temperature conditions during 90 days. The samples that were not immersed in ethanol presented a bixin degradation ranging from 23 to 74%. Standards storage with immersion in ethanol was effective to maintain the pigment until 45 days under freezing when compared to samples without immersion. The storage temperature did not affect the pigment concentration. **Chapter 4.** The annatto seed is used primarily as a raw material in the bixin production and its industrialization generates about 96% of waste, which after dried and milled remain appropriate for reuse. The aim of this study was to characterize the annatto seed by-product physically, chemically and functionally. The annatto seed by-product showed considerable levels of minerals and the parameters evaluated were useful to characterize the annatto seed by-product and chemical composition analysis demonstrated the potential use of bran as raw material. **Chapter 5.** This chapter aimed to study the hygroscopic behavior of annatto seed by-product at 25 ° C and 35 ° C. The Kühn model properly fitted the equilibrium moisture data and bixin losses (approximately 43% of the content) and color changes were more prominent at 35 °C, especially under 68% relative humidity.

Key words: *Bixa orellana*, bixin, HPLC, stability, by-product.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### **CAPÍTULO 1 - ATUALIDADES SOBRE A QUÍMICA E A UTILIZAÇÃO DO URUCUM**

FIGURA 1.1 - a) PLANTA DE URUCUZEIRO; b) FLORAÇÃO DE URUCUZEIRO; c) FRUTOS DE URUCUZEIRO; d) SEMENTES DE URUCUZEIRO.....	23
FIGURA 1.2 - FRUTOS DE URUCUZEIRO EM MATURAÇÃO PLENA.....	24
FIGURA 1.3 - ESTRUTURA QUÍMICA DA BIXINA.....	27
FIGURA 1.4 - ESTRUTURA QUÍMICA DO GERANILGERANIOL.....	29
TABELA 1.1 - PRODUÇÃO, ÁREA, VALOR E PREÇO DO URUCUM NO PARANÁ, DE 2005 A 2010.....	26
TABELA 1.2 - CLASSIFICAÇÃO COMERCIAL DAS SEMENTES DE URUCUM ...	26

### **CAPÍTULO 2 - CARACTERIZAÇÃO DE SEMENTES DE URUCUM (*Bixa orellana*) DAS CULTIVARES COMUM E PIAVE PRODUZIDAS NO ESTADO DO PARANÁ**

FIGURA 2.1 - CROMATOGRAMA DA ANÁLISE DO TEOR DE BIXINA EM AMOSTRA DE SEMENTE DE URUCUM, OBTIDO DE ACORDO COM AS CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS ESPECIFICADAS NO TEXTO .....	54
FIGURA 2.2 - CROMATOGRAMA DA ANÁLISE DO TEOR DE GERANILGERANIOL EM AMOSTRA DE SEMENTE DE URUCUM, OBTIDO DE ACORDO COM AS CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS ESPECIFICADAS NO TEXTO .....	55
FIGURA 2.3 - DENDROGRAMA DE DISSIMILARIDADE DE CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE SEMENTES DE URUCUM DE DIFERENTES PROCEDÊNCIAS .....	56
FIGURA 2.4 - ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS DE 12 AMOSTRAS DE SEMENTES DE URUCUM .....	57
FIGURA 2.5 - SUPERFÍCIES DE RESPOSTA PARA CORRELAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS ESTUDADAS NA CARACTERIZAÇÃO DE	

SEMENTES DE URUCUM .....	60
FIGURA 2.6 - SUPERFÍCIES DE RESPOSTA PARA CORRELAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS ESTUDADAS NA CARACTERIZAÇÃO DE SEMENTES DE URUCUM .....	61
TABELA 2.1 - IDENTIFICAÇÃO DOS TRATAMENTOS, ORIGEM E CULTIVARES UTILIZADOS NA CARACTERIZAÇÃO DE SEMENTES DE URUCUM .....	46
TABELA 2.2 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE SEMENTES DE URUCUM .....	52
TABELA 2.3 - CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DA SEMENTE DE URUCUM .....	53
TABELA 2.4 - CORRELAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS UTILIZADAS NA CARACTERIZAÇÃO DE SEMENTES DE URUCUM .....	58
TABELA 2.5 - CONTRIBUIÇÕES DAS VARIÁVEIS UTILIZADAS NA CARACTERIZAÇÃO DE SEMENTES DE URUCUM, COM BASE NAS CORRELAÇÕES .....	59

### **CAPÍTULO 3 - OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DE CROMATOGRÁFICO PADRÃO DE BIXINA**

FIGURA 3.1 - CROMATOGRAMAS DA DEGRADAÇÃO DO PADRÃO DE BIXINA ARMAZENADO SOB ATMOSFERA AMBIENTE EM FRASCO SELADO A -12 °C (ESQUERDA) E 23 °C (DIREITA) POR 45 DIAS, OBTIDOS DE ACORDO COM AS CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS ESPECIFICADAS NO TEXTO .....	76
FIGURA 3.2 - DEGRADAÇÃO DO PADRÃO DE BIXINA ARMAZENADO EM DIFERENTES CONDIÇÕES E TEMPERATURAS .....	77
FIGURA 3.3 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA ARMAZENAMENTO DE PADRÃO DE BIXINA OBTIDO POR EXTRAÇÃO COM ACETATO DE ETILA EM FUNÇÃO DO TEMPO E DA TEMPERATURA .....	78
FIGURA 3.4 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA ARMAZENAMENTO DE PADRÃO DE BIXINA OBTIDO POR EXTRAÇÃO COM SOLUÇÃO ALCOÓLICA AMONÍACAL EM FUNÇÃO DO TEMPO E DA	

TEMPERATURA .....	79
FIGURA 3.5 - MICROGRAFIAS DE PADRÃO DE BIXINA EXTRAÍDO PELA METODOLOGIA DE ACETATO DE ETILA EM AUMENTOS DE 330, 1.300 E 20.000 VEZES .....	80
FIGURA 3.6 - MICROGRAFIAS DE PADRÃO DE BIXINA EXTRAÍDO COM SOLUÇÃO ALCOÓLICA AMONÍACAL (a) ARMAZENADO A -12 °C (b) e 23 °C (c) .....	81
TABELA 3.1 - PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA ACONDICIONAMENTO DO PADRÃO CROMATOGRÁFICO DE BIXINA IMERSO EM ETANOL ABSOLUTO.....	73
TABELA 3.2 - ANÁLISE DE VARÂNCIA PARA EFEITO DO TEMPO E DA TEMPERATURA NO ARMAZENAMENTO DE PADRÃO DE BIXINA OBTIDO POR EXTRAÇÃO COM ACETATO DE ETILA.....	78
TABELA 3.3 - ANÁLISE DE VARÂNCIA PARA EFEITO DO TEMPO E DA TEMPERATURA NO ARMAZENAMENTO DE PADRÃO DE BIXINA OBTIDO POR EXTRAÇÃO COM SOLUÇÃO ALCOÓLICA AMONÍACAL.....	79

#### **CAPÍTULO 4 - CARACTERIZAÇÃO DO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM**

FIGURA 4.1 - CROMATOGRAMA DA ANÁLISE DO TEOR DE BIXINA EM FARELO DE SEMENTE DE URUCUM, OBTIDO DE ACORDO COM AS CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS ESPECIFICADAS NO TEXTO .....	99
FIGURA 4.2 - DENDROGRAMA DE DISSIMILARIDADE PARA OS DIFERENTES DIÂMETROS DO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM .....	100
FIGURA 4.3 - ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS DE 12 AMOSTRAS DE SEMENTES DE URUCUM .....	101
TABELA 4.1 - DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DE PARTÍCULAS NO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM .....	95
TABELA 4.2 - PARÂMETROS COLORIMÉTRICOS DO FARELO DE SEMENTE	

	DE URUCUM, DE ACORDO COM DIFERENTES DIÂMETROS DE PARTÍCULA .....	96
TABELA 4.3 -	COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM NÃO SEPARADO POR GRANULOMETRIA DETERMINADA NO PRESENTE TRABALHO E POR DIFERENTES AUTORES .....	97
TABELA 4.4 -	TEORES DE BIXINA (EM BASE SECA) DO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM, DE ACORDO COM DIFERENTES DIÂMETROS DE PARTÍCULA .....	98
TABELA 4.5 -	CORRELAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS UTILIZADAS NA CARACTERIZAÇÃO DO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM ....	101
TABELA 4.6 -	CONTRIBUIÇÕES DO DIÂMETRO DO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM, COM BASE NAS CORRELAÇÕES .....	102
TABELA 4.7 -	CONTRIBUIÇÕES DAS VARIÁVEIS UTILIZADAS NA CARACTERIZAÇÃO DO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM, COM BASE NAS CORRELAÇÕES .....	102

## **CAPÍTULO 5 - EFEITO DAS CONDIÇÕES AMBIENTAIS NAS CARACTERÍSTICAS DO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM**

FIGURA 5.1 -	a) ACONDICIONAMENTO DAS AMOSTRAS DE FSU EM POTES CONTENDO SOLUÇÃO SATURADA; b) DISPOSIÇÃO DOS POTES FECHADOS EM ESTUFA INCUBADORA.....	115
FIGURA 5.1 -	EQUILÍBRIO HIGROSCÓPICO DE FARELO DE SEMENTE DE URUCUM A 25 °C (○) e 35 °C (■) EM DIFERENTES UMIDADES RELATIVAS .....	114
FIGURA 5.2 -	EFEITO DA UMIDADE DE EQUILÍBRIO NO CALOR ISOSTÉRICO DE SORÇÃO PARA FARELO DA SEMENTE DE URUCUM .....	123
FIGURA 5.3 -	TEORES DE BIXINA NO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM A 25 °C (○) e 35 °C (■) EM DIFERENTES UMIDADES RELATIVAS..	124
TABELA 5.1 -	ATIVIDADE DE ÁGUA DE SOLUÇÕES SALINAS NAS TEMPERATURAS DE ESTUDO .....	114

TABELA 5.2 -	MODELOS MATEMÁTICOS UTILIZADOS PARA AJUSTAR OS DADOS DE UMIDADE DE EQUILÍBRIO DO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM .....	115
TABELA 5.3 -	PARÂMETROS CALCULADOS, $R^2$ , $P(\%)$ E $SE$ PARA AJUSTE DOS DADOS DE EQUILÍBRIO DE UMIDADE DE FARELO DE SEMENTE DE URUCUM COM MODELOS MATEMÁTICOS SELECIONADOS A DUAS TEMPERATURAS .....	121
TABELA 5.4 -	PARÂMETROS DE COR CIE $L^*a^*b^*$ DO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM APÓS ARMAZENAMENTO A 25 °C E 35 °C SOB DIFERENTES UMIDADES RELATIVAS .....	125

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

A, B, C, K, $k_1$ , $k_2$ , z	Constantes dos modelos matemáticos
ANOVA	Análise de variância
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
$a_w$	Atividade de água
BET	Brunauer, Emmet, Teller
CA	Análise de Cluster
CAMO	Capacidade de absorção de molécula orgânica
CIE	<i>Commision Internationale L'Eclairage</i>
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CRA	Capacidade de retenção de água
CRO	Capacidade de retenção de óleo
$D_p$	Diâmetro médio da partícula
FSU	Farelo de semente de urucum
GAB	Guggenheim, Anderson, DeBoer
$H_{ST}$	Calor isostérico de sorção ( $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ )
IAL	Instituto Adolfo Lutz
ICP-OES	<i>Inductively coupled plasma optical emission spectrometry</i>
ITAL	Instituto de Tecnologia de Alimentos
Kcal	Quilocaloria
kV	Quilovolts
$L^*$ , $a^*$ , $b^*$ , $C^*$ , $h^*$	Parâmetros colorimétricos
$\mu\text{m}$	Micrômetros
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
N	Número de dados experimentais
Nm	Nanômetro
$P$	Número de constantes do modelo matemático
P (%)	Erro relativo percentual (%)
PCA	Análise de Componentes Principais
PC1, PC2	Componentes principais
PTFE	Politetrafluoretileno
R	Constante universal dos gases ( $8.314 \times 10^{-3} \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ )
$R^2$	Coeficiente de determinação
SE	Erro padrão
$U_{eq}$	Umidade de equilíbrio (g de água.g de matéria seca <sup>-1</sup> )
UV	Ultravioleta
$x_m$	Umidade na monocamada (g de água.g de matéria seca <sup>-1</sup> )
Y e $\hat{Y}$	Valores experimentais e calculados, respectivamente



## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	19
OBJETIVOS.....	20
<b>CAPÍTULO 1 - ATUALIDADES SOBRE A QUÍMICA E A UTILIZAÇÃO DO URUCUM</b>	
<b>1 CORANTES EM ALIMENTOS .....</b>	<b>22</b>
<b>2 O URUCUM .....</b>	<b>23</b>
2.1 BIXINA .....	27
2.2 OUTROS COMPONENTES .....	28
<b>3 MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DA BIXINA .....</b>	<b>29</b>
3.1 MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO .....	29
3.2 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA .....	30
3.2.1 Padrão cromatográfico .....	31
<b>4 PROCESSAMENTO DAS SEMENTES DE URUCUM .....</b>	<b>31</b>
4.1 FARELO DA SEMENTE DE URUCUM .....	32
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>33</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>35</b>
<b>CAPÍTULO 2 - CARACTERIZAÇÃO DE SEMENTES DE URUCUM (<i>Bixa orellana</i>) DAS CULTIVARES COMUM E PIAVE PRODUZIDAS NO ESTADO DO PARANÁ</b>	
<b>RESUMO .....</b>	<b>42</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>43</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>44</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>46</b>
2.1 SEMENTES DE URUCUM .....	46
2.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA .....	46
2.2.1 Umidade .....	46
2.2.2 Bixina .....	46
2.2.3 Atividade de água .....	47

2.2.4	Cor instrumental .....	47
2.2.5	Lipídios .....	48
2.2.6	Geranilgeraniol .....	48
2.2.7	Impurezas .....	48
2.2.8	Densidade e volume médio .....	48
2.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	49
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>50</b>
3.1	CARACTERÍSTICAS FÍSICAS .....	50
3.2	CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS .....	53
3.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA .....	55
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>62</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>63</b>
<b>CAPÍTULO 3 - OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DE PADRÃO DE BIXINA</b>		
	<b>RESUMO .....</b>	<b>67</b>
	<b>ABSTRACT .....</b>	<b>68</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>69</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>71</b>
2.1	MATÉRIA-PRIMA .....	71
2.2	OBTENÇÃO DO PADRÃO CROMATOGRÁFICO DE BIXINA .....	71
2.2.1	Extração com Acetato de Etila .....	71
2.2.2	Extração com solução Alcoólica Amoniacal .....	71
2.3	ACONDICIONAMENTO DOS PADRÕES DE BIXINA OBTIDOS .....	72
2.3.1	Acondicionamento da bixina sob atmosfera ambiente em frasco selado .....	72
2.3.2	Acondicionamento da bixina imersa em etanol absoluto em frasco selado.....	72
2.4	AVALIAÇÃO DO TEOR DE BIXINA POR CLAE .....	73
2.5	CARACTERIZAÇÃO MICROSCÓPICA .....	73
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>75</b>

<b>4 CONCLUSÃO .....</b>	<b>82</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>83</b>
<b>CAPÍTULO 4 - CARACTERIZAÇÃO DO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM</b>	
<b>RESUMO .....</b>	<b>86</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>87</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>88</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>90</b>
2.1 FARELO DA SEMENTE DE URUCUM .....	90
2.2 CARACTERIZAÇÃO GRANULOMÉTRICA .....	90
2.3 CÁLCULO DO DIÂMETRO MÉDIO DAS PARTÍCULAS .....	90
2.4 PROPRIEDADES FUNCIONAIS .....	91
2.4.1 Capacidade de retenção de água (CRA) e Capacidade de retenção de óleo (CRO) .....	91
2.4.2 Capacidade de absorção de molécula orgânica (CAMO) .....	91
2.5 COR INSTRUMENTAL .....	91
2.6 PROPRIEDADES QUÍMICAS .....	92
2.6.1 Teor de umidade .....	92
2.6.2 Teor de cinzas e minerais .....	92
2.6.3 Lipídios .....	92
2.6.4 Proteínas .....	92
2.6.5 Fibras .....	93
2.6.6 Carboidratos .....	93
2.6.7 Valor energético .....	93
2.6.8 Teores de bixina .....	93
2.7 ANÁLISE MULTIVARIADA .....	94
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>95</b>
3.1 DIÂMETRO MÉDIO DAS PARTÍCULAS .....	95
3.2 PARÂMETROS COLORIMÉTRICOS .....	95
3.3 PROPRIEDADES QUÍMICAS .....	96
3.4 TEORES DE BIXINA .....	98

3.5	PROPRIEDADES FUNCIONAIS .....	99
3.6	ANÁLISE MULTIVARIADA .....	100
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>103</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>104</b>
<b>CAPÍTULO 5 - EFEITO DAS CONDIÇÕES AMBIENTAIS NAS CARACTERÍSTICAS DO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM</b>		
	<b>RESUMO .....</b>	<b>109</b>
	<b>ABSTRACT .....</b>	<b>110</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>111</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>113</b>
2.1	FARELO DA SEMENTE DE URUCUM .....	113
2.2	COMPOSIÇÃO QUÍMICA .....	113
2.2.1	Teor de umidade .....	113
2.2.2	Teor de cinzas e minerais .....	113
2.2.3	Lipídios .....	113
2.2.4	Proteínas .....	113
2.2.5	Fibras .....	114
2.2.6	Carboidratos .....	114
2.3	DETERMINAÇÃO EXPERIMENTAL DOS DADOS DE UMIDADE DE EQUILÍBRIO .....	114
2.4	ANÁLISE DOS DADOS DE UMIDADE DE EQUILÍBRIO .....	115
2.5	CÁLCULO DO CALOR ISOTÉRMICO DE SORÇÃO .....	116
2.6	DETERMINAÇÃO DO TEOR DE BIXINA POR CLAE .....	117
2.7	COR INSTRUMENTAL .....	117
2.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS .....	117
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>118</b>
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>127</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>128</b>
	<b>CONCLUSÃO GERAL.....</b>	<b>132</b>

## INTRODUÇÃO GERAL

O mercado globalizado demonstra uma tendência em substituir os corantes sintéticos em alimentos, além das restrições impostas pela Organização Mundial da Saúde, levando à pesquisa e exploração de materiais naturais. Entre os corantes naturais para alimentos, o urucum é o mais utilizado no mundo, podendo ser aplicado em produtos de laticínios, carnes e doces. A utilização se estende a outros segmentos como as indústrias têxtil, de tintas, ração animal e cosméticos.

O Brasil é considerado um dos maiores exportadores de sementes de urucum e mesmo assim a qualidade do produto no mercado internacional é considerada baixa. E o estado do Paraná tem uma participação relevante na produção nacional, visto que alguns de seus municípios figuram entre os maiores produtores do Brasil.

O principal pigmento do urucum é a bixina, um carotenoide encontrado na superfície das sementes de *Bixa orellana*. Além da exploração da capacidade tintorial, a bixina tem sido alvo de diversos estudos que associam a redução da incidência de alguns tipos de doenças às suas propriedades bioativas. Um dos maiores desafios encontrados, tanto na pesquisa quanto na aplicação, é a instabilidade do composto a determinadas condições de temperatura, luminosidade e oxigênio. As reações de isomerização, oxidação e hidrólise do pigmento podem ocorrer nos processos de beneficiamento do grão e na industrialização do corante.

A principal forma de processamento do corante é por imersão em solução alcalina, óleo vegetal ou solventes orgânicos. A semente também serve de matéria-prima para a produção do colorífico e o resíduo das sementes processadas pode ser utilizado em ração animal ou como agente de pigmentação de gema de ovos.

Nas determinações analíticas dos carotenoides de urucum, o uso da cromatografia líquida de alta eficiência é mais indicado frente aos métodos espectrofotométricos, apesar da necessidade de padrões não disponíveis comercialmente, que necessitam ser obtidos no próprio laboratório de análise e com alta pureza e estabilidade.

## OBJETIVOS

A partir da representatividade da produção paranaense de urucum, o corante natural mais utilizado na indústria brasileira de alimentos, os objetivos deste trabalho foram:

- Comparar as características físicas e químicas de sementes de urucum de cultivares denominadas “Comum” frente à cultivar “Piave” produzidas no Paraná.
- Comparar duas metodologias disponíveis em literatura para isolamento de um padrão cromatográfico de bixina de elevada pureza e estudar seu comportamento durante armazenagem.
- Caracterizar o farelo da semente de urucum com relação às propriedades físicas, química e funcionais.
- Estudar o comportamento higroscópico do farelo da semente de urucum.

## **CAPÍTULO 1**

### **ATUALIDADES SOBRE A QUÍMICA E A UTILIZAÇÃO DO URUCUM**

## 1 CORANTES EM ALIMENTOS

Quase 90% das percepções dos sentidos do ser humano acontecem através da visão. A luz, sob diferentes comprimentos de onda, quando penetra nos olhos provoca estímulos no cérebro e produz as distinções de cor (ANGELUCCI, 1988).

Apesar de subjetiva, a aceitação de um produto alimentício pelo consumidor está diretamente ligada com a cor, sendo este o primeiro atributo a ser avaliado. Por isso, existe a preocupação das indústrias de alimentos em adicionar corantes aos produtos como forma de restituir a cor original perdida durante o processamento, tornar um alimento mais atraente, relacionando a cor a outras características como sabor e aroma, conferir cor a alimentos incolores ou somente reforçar cores existentes (CONSTANT; STRINGHETA; SANDI, 2002).

Os corantes disponíveis para utilização em alimentos são divididos em dois grupos, os artificiais e os naturais. Apesar dos corantes artificiais serem mais baratos e possuírem maior estabilidade, existe uma tendência de substituição de aditivos sintéticos em geral, pelos ingredientes naturais. Além da tendência de consumo, também existe a atribuição de propriedades funcionais a alguns desses corantes naturais (CONSTANT; STRINGHETA; SANDI, 2002).

A denominação “natural” não significa necessariamente que o produto é bom ou saudável. Os corantes naturais necessitam de especificação de pureza, de restrição de uso e da quantidade máxima permitida. Apesar da tendência, a substituição direta dos sintéticos por naturais nem sempre vai adiante e requer desenvolvimento de tecnologias e métodos de extração, além de métodos analíticos para determinação (SCOTTER, 2011).

No Brasil, uma das principais matérias-primas utilizadas na produção de corantes naturais é o urucum. O pigmento do urucum é extraído da camada externa das sementes da planta de *Bixa orellana* L. e é constituído em sua maioria pelo carotenoide bixina (STRINGHETA; SILVA, 2008).

A bixina é indexada no Colour Index, um órgão internacional de nomenclatura de corantes, como CI n°75120, mas a denominação mais conhecida é da Comunidade Europeia, como ECC n°E160b (MARMION, 1991; OLIVEIRA, 2005).



## 2 O URUCUM

O urucuzeiro é originário da América Tropical, pertence à família *Bixaceae* com o nome botânico de *Bixa orellana* L. (GOUVEIA; MOURA; MEDEIROS, 2000). Dependendo da região de cultivo e da idade da planta, apresenta-se como um arbusto perene grande ou como uma árvore pequena, variando de 2 a 5 metros de altura. A planta exibe grande variabilidade de coloração, com caule, frutos verdes e flores brancas ou caule vermelho, flores rosas e frutos vermelho-escuro (Figura 1.1) (INGRAM; FRANCIS, 1969).



a)



b)



c)



d)

FIGURA 1.1 – a) PLANTA DE URUCUZEIRO; b) FLORAÇÃO DE URUCUZEIRO; c) FRUTOS DE URUCUZEIRO; d) SEMENTES DE URUCUZEIRO.

FONTE: FRANCO *et al.*, (2002).

Os frutos são do tipo cápsula ou cachopa, ovoides ou globosos, com 2 a 3 carpelos que variam de 3 a 4 cm de comprimento e 3 a 4,5 cm de diâmetro. Externamente, são revestidos por espinhos moles e possuem coloração variável entre o verde, vermelho-pálido e roxo. No interior, estão normalmente divididos em duas valvas com um conteúdo de grãos que varia de 10 a 50 (Figura 1.1) (INGRAM; FRANCIS, 1969; PRESTON; RICKARD, 1980).

Os grãos são arredondados, revestidos por uma camada pastosa de coloração avermelhada, os quais tornam-se secos, duros e de coloração escura com o amadurecimento (Figura 1.2). Apresentam diâmetro médio de 0,4 cm. A bixina é o pigmento presente em maior concentração nos grãos, representando mais de 80% dos carotenoides totais do urucum, lipossolúvel e sujeita à extração com alguns solventes orgânicos. (FRANCO *et al.*, 2002).



FIGURA 1.2 – FRUTOS DE URUCUZEIRO EM MATURAÇÃO PLENA.

FONTE: FRANCO *et al.*, (2002).

De acordo com Franco *et al.* (2008), o urucuzero floresce, frutifica e matura durante, praticamente, todo o ano. No Paraná, em condições normais de clima, a primeira floração é mais intensa entre os meses de fevereiro e março, cuja colheita principal ocorre de junho a julho. A segunda floração ocorre nos meses de julho e agosto com colheita em novembro e dezembro, sendo ambas as colheitas executadas de modo rudimentar, já que a maior parte da produção do urucum é proveniente da agricultura familiar.

As cápsulas devem ser colhidas apenas quando estiverem maduras e secas, pois o elevado percentual de umidade dos grãos contribui para o crescimento de micro-organismos. Os frutos colhidos permanecem no campo por um curto período de tempo, no espaço conhecido como entrelinhas das plantas. Dependendo das condições do clima, os frutos são armazenados em local adequado (FRANCO *et al.*, 2002).

O descachopamento, operação conhecida como a separação das sementes das cachopas, pode ser efetuado manual ou mecanicamente, sendo que este último é o mais indicado, por apresentar menores perdas de corante. A secagem consiste no recolhimento dos grãos peneirados sobre lonas, em terreiros ou secadores de alvenaria durante aproximadamente um dia (FRANCO *et al.*, 2002).

Após o beneficiamento e principalmente durante o armazenamento, observa-se que a diminuição do teor de corante está associada a alguns fatores, tais como teor de umidade, atividade de água dos grãos, temperaturas elevadas, exposição ao ar e umidade relativa do ambiente, conforme citado por Corrêa *et al.* (1991).

No Brasil, a cultura do urucum ainda não dispõe de variedades, mas da denominação de cultivares. Os principais tipos cultivados de interesse para as principais regiões produtoras são: Peruana Paulista (São Paulo), Bico de Pato (Bahia), Piave Vermelha (Pará), Piave Vermelha Grande, Bico de Calango, Verde Amarela, entre outros cultivados nas demais regiões do país (REBOUÇAS; SÃO JOSÉ, 1996).

A cultivar Piave, se plantada no Nordeste brasileiro, produz grãos com teor de bixina em torno de 1,75% (FRANCO *et al.*, 2002). Em contrapartida, em solo paranaense e lavouras adequadamente conduzidas, a cultivar Piave produz grãos com até 6% de teor de bixina (FRANCO *et al.*, 2008).

No Sul do Brasil, o estado do Paraná é o maior produtor de urucum da região. A cultura paranaense, que teve início na década de 1980, está concentrada nos municípios de Paranacity e Cruzeiro do Sul, na região Noroeste (RÜCKER; MORSBACH, 1996; FRANCO *et al.*, 2008). De acordo com um levantamento realizado pela Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Estado do Paraná, são verificadas oscilações tanto na produção estadual quanto no preço pago ao agricultor (Tabela 1.1).

TABELA 1.1 – PRODUÇÃO, ÁREA, VALOR E PREÇO DO URUCUM NO PARANÁ, DE 2005 A 2010.

ANO	PRODUÇÃO (kg)	ÁREA (ha)	VALOR (R\$)	PREÇO (R\$/kg)
2005	2.763.844	1.099	3.786.466,28	1,37
2006	1.261.680	1.092,5	2.371.958,40	1,88
2007	1.171.844	1.052,3	2.542.901,48	2,17
2008	1.142.138	1.042,9	2.969.558,80	2,60
2009	1.340.350	1.155,25	3.699.366,00	2,76
2010	1.467.019	1.279,8	3.828.919,59	2,61

FONTE: PARANÁ, 2012.

Para efeitos comerciais, consideram-se como parâmetros de qualidade a umidade das sementes, o teor de bixina, o odor típico, a presença de impurezas, como pedúnculos, folhas e galhos oriundos da própria planta, material estranho e mofo (FRANCO, 2008). Na Tabela 1.2 é apresentada uma classificação das sementes, de acordo com os atributos de qualidade, proposta por Franco *et al.* (2002).

TABELA 1.2 – CLASSIFICAÇÃO COMERCIAL DAS SEMENTES DE URUCUM

FATORES DE QUALIDADE	CLASSE		
	TIPO 1	TIPO 2	TIPO 3
Umidade	≤10%	10% a 14%	>14%
Bixina	>2,5%	2% a 2,5%	<1,8%
Impurezas	<5%	<5%	>5%
Materiais estranhos	Ausência	Ausência	Presença

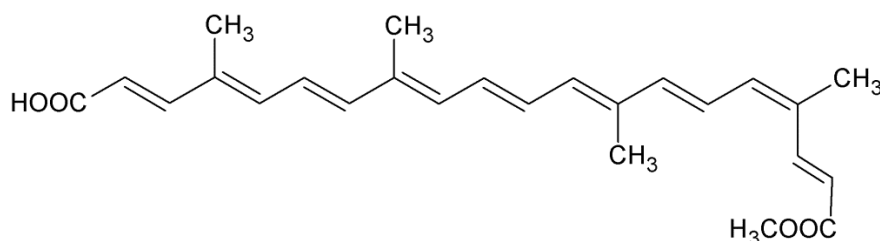
FONTE: FRANCO *et al.* (2002).

O teor de pigmentos presentes nas sementes de urucum oscila de acordo com a variedade da cultura, do solo, do clima e dos tratamentos culturais, podendo ser encontradas sementes com menos de 1% e até com 6% de bixina (CARVALHO; HEIN, 1989).

Mazzani, Marin e Segovia (2000) analisaram dez cultivares diferentes de urucum em uma coleção na Venezuela e verificaram que a procedência das plantas foi responsável pelo grau de diferença entre elas. Os resultados obtidos nos estudos comparativos fornecem informações que podem ser utilizadas em trabalhos de melhoramentos genéticos (CARVALHO *et al.*, 2010).

Mas as dificuldades na comparação entre os resultados do teor de bixina de diferentes procedências podem estar relacionadas à falta de uniformidade dos

O corante do urucum responsável pelas tonalidades que variam do amarelo ao vermelho é a bixina ( $C_{25}H_{30}O_4$ ), um diapo-carotenoide, representado pela parte central da molécula de um carotenoide, sem os anéis terminais (Figura 1.3) (STRINGHETA; SILVA, 2008).



FONTE: STRINGHETA; SILVA (2008).

A bixina apresenta a particularidade dentre os carotenoides por ser encontrada naturalmente na configuração *cis* e por possuir em sua molécula dois grupos carboxílicos, sendo um deles um éster metílico. Esta característica confere lipossolubilidade à molécula. Se ocorrer a hidrólise alcalina do agrupamento metílico, obtém-se o sal hidrossolúvel da norbixina (SILVA, 2007).

O extrato de urucum tem uma estabilidade considerável à oxidação pelo oxigênio em meio anidro, mas uma resistência mais baixa aos efeitos da luminosidade. Uma forma de garantir a estabilidade do corante sob a incidência luminosa é a adição de antioxidantes, conforme sugeriram Najjar, Bobbio e Bobbio (1988). A norbixina, em efeito sinérgico com tocoferóis e ácido ascórbico, retardou a deterioração oxidativa em emulsões (KIOKIAS; GORDON, 2003).

Ao analisarem diferentes extratos de urucum, Chisté, Benassi e Mercadante (2011) encontraram uma correlação positiva entre os teores de bixina e parâmetros de cor ( $L^*$  e  $C^*$ ) dos extratos. Os autores ainda verificaram correlação entre teores de bixina e atividade antioxidante, variando de acordo com o solvente utilizado.

Cardarelli, Benassi e Mercadante (2008), ao estudarem diferentes extratos de urucum, verificaram correlação positiva entre o teor de bixina e a coloração vermelha. Já as propriedades antioxidantes dos extratos tiveram correlação com os teores de compostos fenólicos analisados.

## 2.2 OUTROS COMPONENTES

Juntamente com os carotenoides, os compostos fenólicos são considerados importantes para a saúde humana, por serem responsáveis por algumas funções biológicas como a diminuição do risco de doenças inflamatórias, degenerativas e cardiovasculares (KRINSKY, 1994). Chisté *et al.* (2011) identificaram compostos fenólicos como hipoaletina e derivados de ácido cafeico em sementes de urucum.

Mas apesar de bastante difundidas na cultura popular, as propriedades medicinais da planta ainda são pouco estudadas. Desde a utilização pelos índios, como proteção contra queimaduras solares e repelente de insetos, existem relatos da utilização das partes da planta na forma de chá, maceradas ou como xarope, no tratamento de febre, queimaduras, como cicatrizante, diurético, antialérgico e até como antídoto antiofídico (MORAIS *et al.*, 2005; STRINGHETA; SILVA, 2008).

Algumas pesquisas dão suporte científico para o uso popular do urucum, como o estudo conduzido por Coelho *et al.* (2003). Os autores verificaram que tinturas extraídas do caule, flor, folha, fruto e raiz de exemplares de urucum inibiram o desenvolvimento de doze espécies de bactérias estudadas.

Apesar da bixina ser o único componente do urucum que apresenta importância comercial, a planta possui vários compostos exóticos e alguns deles não são encontrados em nenhuma outra planta, e a maioria foi recentemente identificada. Um composto predominante entre os demais é o geranilgeraniol (Figura 1.4), também encontrado na parte externa da semente, sendo o óleo essencial do urucum a fonte mais abundante deste componente, com teores próximos a 1% (COSTA; CHAVES, 2005; STRINGHETA; SILVA, 2008).

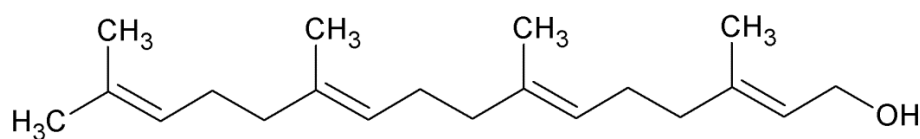


FIGURA 1.4 - ESTRUTURA QUÍMICA DO GERANILGERANIOL

FONTE: STRINGHETA; SILVA (2008).

De acordo com Jondiko e Pattenden (1989) e Silva *et al.* (2010), o geranylgeraniol é utilizado como um importante intermediário de biossínteses de substâncias como a vitamina K, de tocoferóis e tocotrienóis, de diversos hormônios e carotenoides.

Baseados na escassez de trabalhos tratando do geranylgeraniol em urucum, Silva *et al.* (2011) propuseram uma metodologia para extrair e avaliar a concentração deste composto em sementes produzidas no estado de São Paulo. No estudo, foram reportados valores que variaram de 0,32% a 1,38% de geranylgeraniol, apresentando uma correlação positiva com os teores de lipídios nas amostras.

### 3 MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DA BIXINA

#### 3.1 MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO

Os primeiros métodos de análise de carotenoides em sementes de urucum baseavam-se em determinações espectrofotométricas (YABIKU; TAKAHASHI, 1991; CARVALHO; SILVA, MOREIRA, 1993).

Para o cálculo dos resultados, é necessária a utilização dos coeficientes de extinção ou absorvância. Dependendo do coeficiente utilizado, podem aparecer discrepâncias entre os resultados. Vários autores já publicaram coeficientes de extinção para bixina e norbixina e são verificadas diferenças significativas entre eles e os resultados que retornam (STRINGHETA; SILVA, 2008).

Apesar de ser um método rápido e barato, no caso da utilização da espectrofotometria para determinação da bixina, existe o inconveniente de que os isômeros apresentam comprimentos de onda próximos aos do carotenoide original. Isto dificulta a verificação de sua presença apenas através da leitura dos



carotenoides totais (RIOS, 2004). Por este motivo, é recomendada a utilização da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) para separação dos compostos.

### 3.2 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

Além da vantagem da separação dos isômeros, os métodos cromatográficos por CLAE permitem o monitoramento da análise simultaneamente, em diferentes comprimentos de onda, com o uso de pequenas alíquotas de amostras (STRINGHETA; SILVA, 2008).

Diversos autores propõem metodologias para detectar, separar e quantificar pigmentos de urucum em alimentos. A escolha do método de extração do corante da matriz alimentícia, ou da detecção, separação e quantificação do pigmento dependem da composição e da complexidade da matriz alimentícia, além do tempo e do custo para cada método (RIOS, 2004; STRINGHETA; SILVA, 2008).

Ao pesquisarem o teor de bixina por CLAE em coloríficos, Tocchini e Mercadante (2001) utilizaram um método de extração do pigmento que consiste em extrações sucessivas de cerca de 0,3 g de amostra em metanol e acetona (50 mL), em ultra-som, antes da injeção no cromatógrafo. As autoras separaram os carotenoides em um cromatógrafo líquido de alta eficiência operando a 470 nm, com conjunto de bombeamento quaternário de solventes, detector de arranjo de diodos, volume de injeção de 20 µL, coluna C18 150 mm x 4,6 mm, acetonitrila:ácido acético 2% (65:35).

A CLAE também pode ser utilizada na separação e quantificação dos carotenoides da semente de urucum. Silva *et al.* (2010) validaram uma metodologia para determinação de bixina e norbixina em sementes, que consiste na pesagem de 10 grãos inteiros (cerca de 0,28 g) e extrações sequenciais do pigmento utilizando 10 mL de clorofórmio em banho ultra-som até completar um balão volumétrico de 250 mL e secagem de uma alíquota do extrato sob N<sub>2</sub> para diluição em fase móvel antes da injeção no cromatógrafo. Os autores sugerem ainda como condições cromatográficas um monitoramento a 460 nm, coluna de 250 mm x 4 mm e 5 µm com fase móvel composta por acetonitrila:metanol:clorofórmio:ácido acético 6% (60:20:10:10) com vazão de 1 mL min<sup>-1</sup>.



### 3.2.1 Padrão cromatográfico

A maior dificuldade nas análises de carotenoides por CLAE é obter e manter padrões puros. Os carotenoides altamente insaturados são suscetíveis à isomerização e oxidação. Apesar da maioria dos padrões de carotenoides estar disponível comercialmente, eles são caros, principalmente se há necessidade de importação. Portanto, é útil para um laboratório de análise de carotenoides o desenvolvimento e a prática de isolar e manter seus próprios padrões, inclusive aqueles que não podem ser obtidos comercialmente (KIMURA; RODRIGUEZ-AMAYA, 2002).

A data da última verificação da pureza do padrão pela empresa produtora pode, em muitos casos, acontecer vários meses antes da data da compra pelo laboratório. E ainda, as condições de armazenamento recomendadas demonstram a variabilidade de acordo com diferentes fornecedores, como é o caso da temperatura, que pode ser de -20 °C até a temperatura ambiente (AVRAMIDES, 2005).

## 4 PROCESSAMENTO DAS SEMENTES DE URUCUM

De acordo com Preston e Rickard (1980) e Carvalho (1999), existem três processos comerciais para extração do pigmento dos grãos de urucum: a extração por imersão em solução alcalina, a mais utilizada, a extração por imersão em óleo vegetal e em solventes orgânicos. Além das preparações comerciais utilizadas como corantes, mais da metade das sementes de urucum produzidas no Brasil são usadas para o preparo de uma especiaria conhecida como colorífico, totalmente consumida no mercado nacional. O colorífico é obtido a partir da mistura do pigmento ou da semente triturada do urucum com farinha de milho, óleo vegetal e sal (GHIRALDINI, 1989; CARVALHO, 2010b).

Na industrialização dos corantes de urucum, as soluções alcalinas, como hidróxido de sódio ou potássio, convertem a bixina da sua forma lipossolúvel a hidrossolúvel, através da hidrólise alcalina formando o ácido dicarboxílico livre, a norbixina (CARVALHO, 1992; FRANCO *et al.*, 2002).

A extração direta do pigmento, pela imersão da semente em óleo vegetal

comestível refinado produz uma solução oleosa de bixina, que é aquecida e depois filtrada. O extrato é utilizado em alimentos com alto teor de lipídios e apresenta colorações variadas de acordo com as temperaturas de extração utilizadas, que acabam dando origem a corantes laranjados ou amarelos, resultado da formação de isômeros mais estáveis (PRESTON; RICKARD, 1980; STRINGHETA; SILVA, 2008).

Na extração com solventes orgânicos, existe a limitação de acordo com a necessidade de um solvente compatível com a utilização no alimento. As sérias restrições devido à toxicidade de determinados solventes restringem o emprego da metodologia (STRINGHETA; SILVA, 2008).

A partir dos inconvenientes de alguns métodos tradicionais, surgem processos alternativos, como tecnologias limpas ou métodos inovadores. É o caso da extração supercrítica, que utiliza um fluido em condições críticas de temperatura e pressão, um processo atóxico e que não deixa resíduos (SILVA; CABRAL, 2000; PESSOA *et al.*, 2006).

Barreto, Jaeger e Massarani (1989) propuseram o uso de atrito mecânico das sementes em moinhos de bolas para extração da bixina e Massarani, Passos e Barreto (1992) e Shuhama *et al.* (2003) estudaram o emprego de leitos de jorro na obtenção do corante.

Outro método, relatado por Carvalho (2010a), consiste na extração do corante de urucum utilizando apenas água como solvente. O autor cita a vantagem da manutenção das características do pigmento em um processo simples, seguro, com resíduo de baixo impacto. É sugerido ainda, que a técnica possa ser desenvolvida em instalações próximas aos produtores das sementes. A facilidade de armazenamento e do transporte dos pigmentos até as indústrias de corantes eliminaria a geração do resíduo das sementes esgotadas, que representa um problema para as indústrias processadoras do corante e poderia ser reaproveitado pelos próprios produtores rurais (GUIMARÃES; BARBOSA; MASSARANI, 1989; CANTO *et al.*, 1991; CARVALHO, 2010a).

#### 4.1 FARELO DA SEMENTE DE URUCUM

Considerando que o grão de urucum possui, no máximo, cerca de 6% de bixina, pode-se afirmar que a extração industrial do pigmento ocasiona cerca de

94% de sobras que, descartadas pela indústria, podem poluir o meio ambiente (SILVA, 2006).

Como alternativa na minimização de resíduos, o material pode passar por um processo de secagem e ser utilizado como adubo em plantações, suplemento de ração animal e ainda agente de pigmentação de gemas de ovos (UTIYAMA, 2001).

De acordo com Bressani *et al.* (1983), o resíduo das sementes caracteriza-se por possuir um alto teor de proteínas (13% a 17%), fibra bruta (aproximadamente 16%) e alto teor de fósforo. No total das proteínas presentes, os autores encontraram níveis adequados dos aminoácidos. Demczuk Jr. *et al.* (2010) encontraram níveis significantes do carotenóide bixina no farelo de semente de urucum.

O potencial de utilização do farelo é comprovado por alguns autores que já estudaram o efeito do resíduo da semente processada e também de extratos de urucum na alimentação animal. Harder *et al.* (2010) relataram que o uso de urucum resultou em um aumento na pigmentação de cortes de peito de frango. Utiyama (2001) estudou o uso do farelo da semente de urucum como um ingrediente alternativo adicionado na ração de suínos. Queiroz (2006) avaliou o efeito do farelo da semente de urucum como agente de pigmentação de gema de ovo de galinhas poedeiras comerciais.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A tendência da utilização de produtos naturais, com características funcionais ou apelo saudável, faz do urucum uma matéria-prima importante para a produção de corantes alimentícios, já que o Brasil é um dos maiores produtores mundiais de sementes de urucum e o estado do Paraná tem relevante representatividade no mercado nacional.

O principal pigmento do urucum, o carotenoide bixina, é extraído da camada externa das sementes de *Bixa orellana* L. por imersão em solução alcalina, óleo vegetal ou solventes orgânicos. A diversidade de produtos que podem ser obtidos a partir das sementes de urucum é útil para satisfazer a necessidade de aplicação de diferentes indústrias processadoras de alimentos. O conhecimento das

características das sementes de diferentes cultivares serve para identificar e valorizar uma determinada região produtora, além de auxiliar no desenvolvimento de novas tecnologias de extração ou no aprimoramento daquelas já existentes.

Após a extração do pigmento, as sementes de urucum são descartadas, podendo representar problemas ambientais. No entanto, se reutilizadas como ingrediente de ração animal pela associação às suas propriedades químicas, físicas e funcionais, podem contribuir para diminuição do desperdício.

Os grãos de urucum possuem outros componentes de importância, mas ainda pouco explorados, como o geranilgeraniol, que apresenta importantes propriedades farmacológicas.

Considerando as transformações químicas às quais os carotenoides estão expostos durante o processamento de um alimento, vários estudos já investigaram os mecanismos de degradação dos pigmentos do urucum, principalmente pelo uso de metodologias analíticas que empregam a CLAE. Porém, no que diz respeito às determinações em laboratório, ainda existe um potencial de exploração de como os padrões cromatográficos podem ser mantidos com a estabilidade e pureza necessária.

## REFERÊNCIAS

ANGELUCCI, E. Corantes para alimentos: legislação brasileira. In: **Corantes para alimentos**. Campinas: ITAL, 1988. p.1-15.

AVRAMIDES, E. J. Long-term stability of pure standards and stock standard solutions for determination of pesticide residues using gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, n. 1080, p. 166-176, 2005.

BARRETO, D. W.; JAEGER, L. M.; MASSARANI, G. Production of bixin concentrates. In: ENEMP, XVII Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados, 1989, São Carlos, SP. **Anais...**São Carlos, SP, 1989.

BRESSANI, R.; PORTA-ESPAÑA DE BARNEÓN, F.; BRAHAM, J. E.; ELÍAS L. G.; GÓMEZ-BRENES, R. Chemical composition, amino acid content and nutritive value of the protein of the annatto seed (*Bixa orellana*, L.). **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, n. 33, p. 356-376, 1983.

CANTO, W. L.; OLIVEIRA, V. P.; CARVALHO, P. R. N.; GERMER, S. P. M. Produção e Mercado de Urucum no Brasil. In: **Estudos Econômicos – Alimentos Processados**, n. 28, 1991, 65 p.

CARDARELLI, C. R.; BENASSI, M. T.; MERCADANTE, A. Z. Characterization of different annatto extracts based on antioxidant and colour properties. **LWT – Food Science Technology**, n. 41, p. 1689-1693, 2008.

CARVALHO, P. R. N. Corantes de urucum hidrossolúveis. **Revista brasileira de corantes naturais**, v. 1, n. 1, p. 242-243, 1992.

\_\_\_\_\_. Os corantes do urucum. In: REUNIÃO NACIONAL DA CADEIA PRODUTIVA DO URUCUM, 2ª, 2010, Campinas, SP. **Palestras e Resumos...** Campinas, SP: Instituto Agrônomo e Instituto de Tecnologia de Alimentos, 2010a.

\_\_\_\_\_. Produção do colorífico. In: REUNIÃO NACIONAL DA CADEIA PRODUTIVA DO URUCUM, 2ª, 2010, Campinas, SP. **Palestras e Resumos...** Campinas, SP: Instituto Agrônomo e Instituto de Tecnologia de Alimentos, 2010b.

\_\_\_\_\_. Urucum: avanços tecnológicos e perspectivas. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 49, n. 1, 1999.

CARVALHO, P. R. N.; HEIN, M. Urucum – Uma fonte de corante natural. **Coletânea do ITAL**, Campinas, n. 19. v. 1, 1989.

CARVALHO, P. R. N.; SILVA, M. G.; FABRI, E. G.; TAVARES, P. E. R.; MARTINS, A. L. M.; SPATTI, L. R. Concentração de bixina e lipídios em sementes de urucum da coleção do IAC. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 3, p. 519-524, 2010.

CARVALHO, P. R. N.; SILVA, M. G.; MOREIRA, C. G. C. Avaliação dos métodos espectrofotométricos de análise de sementes de urucum (*Bixa orellana* L.). **Coletânea do ITAL**, Campinas, n. 23, v. 2, p. 181-188, jul./dez. 1993.

CHISTÉ, R. C.; BENASSI, M. T.; MERCADANTE, A. Z. Effect of solvent type on the extractability of bioactive compounds, antioxidant capacity and colour properties of natural annatto extracts. **International Journal of Food Science and Technology**, n. 46, p. 1863-1870, 2011.

CHISTÉ, R. C.; YAMASHITA, F.; GOZZO, F. C.; MERCADANTE, A. Z. Simultaneous extraction and analysis by high performance liquid chromatography coupled to diode array and mass spectrometric detectors of bixin and phenolic compounds from annatto seeds. **Journal of Chromatography A**, n. 1218, p. 57-63, 2011.

COELHO, A. M. S. P.; SILVA, G. A.; VIEIRA, O. M. C.; CHAVASCO, J. K. Atividade antimicrobiana de *Bixa orellana* L. (Urucum). **Revista Lecta**, v. 21, n.1, p. 47-54, 2003.

CONSTANT, P. B. L.; STRINGHETA, P. C.; SANDI, D. Corantes Alimentícios. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 20, n. 2, p. 203-220, jul./dez, 2002.

CORRÊA, T. B. S.; RODRIGUES, H. R.; WILBERG, V. C.; SOARES, A. G. Determinação das propriedades termodinâmicas da semente de urucum (*Bixa orellana* L.) In: SEMINÁRIO DE CORANTES NATURAIS PARA ALIMENTOS, II. SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE URUCUM, I, 1991, Campinas, SP. **Resumos...** Campinas, SP. 1991.

COSTA, C. L. S.; CHAVES, M. H. Extração de pigmentos das sementes de *Bixa orellana* L.: uma alternativa para disciplinas experimentais de química orgânica. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p.149-152, 2005.

DEMCZUK JR., B.; NAKAMURA, A. M.; IZIDORO, D. R.; RIBANI, R. H. Utilização de

Análise Multivariada na Caracterização de Farelo de Urucum. In: ICBF 2010/ENCONTRO REGIONAL SUL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, X, 2010, Curitiba, PR. **Anais...** Curitiba, PR, 2010.

FRANCO, C. F. O.; FABRI, E. G.; BARREIRO NETO, M.; MANFIOLI, M. H.; HARDER, M. N. C.; RUCKER, N. G. A. **Urucum: sistemas de produção para o Brasil**. João Pessoa: EMEPA, 2008.

FRANCO, C. F. O.; SILVA, F. C. P.; CAZÉ FILHO, J.; BARREIRO NETO, M.; SÃO JOSÉ, A. R.; REBOUÇAS, T. N. H.; FONTINELLI, I. S. C. **Urucum: agronegócio de corantes naturais**. João Pessoa: EMEPA, 2002.

GHIRALDINI, J. E. Produção e comercialização interna de corantes naturais para alimentos. In: SEMINÁRIO DE CORANTES NATURAIS PARA ALIMENTOS, 1989, Campinas, SP. **Resumos...** Campinas, SP, 1989.

GOUVEIA, J. P. G.; MOURA, R. S. F.; MEDEIROS, B. G. S. Determinação de algumas propriedades físicas das sementes de urucum. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, n. 4, p. 35-38, 2000.

GUIMARÃES, I. S.; BARBOSA, A. L. S.; MASSARANI, G. Nota sobre a produção de concentrado de bixina em leite de jorro. **Revista Brasileira de Engenharia Química**, v. 12, n. 2, p. 22-23, 1989.

HARDER, M. N. C.; SPADA, F. P.; SAVINO, V. J. M.; COELHO, A. A. D.; CORRER, E.; MARTINS, E. Coloração de cortes cozidos de frangos alimentados com urucum. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n. 30, v. 2, p. 507-509, 2010.

INGRAM, J. S.; FRANCIS, B. J. The annatto tree (*Bixa orellana*, L.) – A guide to its occurrence, cultivation, preparation and uses. **Tropical Science**, n. 11, p. 97-103, 1969.

JONDIKO, I. J.; PATTENDEN, G. Terpenoids and an apocarotenoid from seeds of *Bixa orellana*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 11, p. 3159-3162, 1989.

KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A scheme for obtaining standard and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. **Food Chemistry**, n. 78, p. 389-398, 2002.

KIOKIAS, S.; GORDON, M. H. Antioxidant properties of annatto carotenoids. **Food**

**Chemistry**, n. 83, p. 523-529, 2003.

KRINSKY, N. I. The biological properties of carotenoids. **Pure Applied Chemistry**, n. 66, p. 1003-1010, 1994.

MARMION, D. M. **Handbook of US Colorants, food, drugs, cosmetics and medical devices**. 3. ed., John Wiley & Sons, 1991.

MASSARANI, G.; PASSOS, M. L.; BARRETO, D. W. Production of annatto concentrates in spouted beds. **Canadian Journal of Chemical Engineering**, n. 70, p. 954-959, 1992.

MAZZANI, E.; MARIN, C. R.; SEGOVIA, V. Estudio de La variabilidad existente em La colección de onoto (*Bixa orellana* L.) del CENIAP-FONAIAP. **Revista Facultad de Agronomía**, v. 17, p. 492-504, 2000.

MORAIS, S. M.; DANTAS, J. D. P.; SILVA, A. R. A.; MAGALHÃES, E. F. Plantas medicinais usadas pelos índios Tapebas do Ceará. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, n. 15, v. 2, p. 169-177, abr./jun., 2005.

NAJAR, S. V.; BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. Effects of light, air, anti-oxidants and pro-oxidants on annatto extracts (*Bixa orellana*). **Food Chemistry**, v. 29, n. 4, 1988.

OLIVEIRA, J. S. **Caracterização, extração e purificação por cromatografia de compostos de urucum (*Bixa orellana* L.)**. 192 p. Tese (Doutorado), Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2005.

PARANÁ. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento do Paraná – SEAB. Departamento de Economia Rural. **Levantamento da produção de urucum no Paraná**. Curitiba, 2012.

PEDROSA, J. P.; CIRNE, L. E. M. R.; MELO NETO, J. M. Teores de bixina e proteína em sementes de urucum em função do tipo e do período de armazenagem. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 3, n. 1, Campina Grande – PB, 1999.

PESSOA, F. I. P.; QUEIROZ, E. M.; COELHO, J. P.; NOBRE, B. P.; MENDES, R. L.; CARDOSO, M. A. T.; PALAVRA, A. F. Estudo do processo de obtenção de produtos de urucum utilizando fluidos supercríticos. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DO



URUCUM, 2006, João Pessoa, PB. **Anais...** João Pessoa: EMEPA, 2006.

PRESTON, H. D.; RICKARD, M. D. Extraction and chemistry of annatto. **Food Chemistry**, n. 5, p. 47-56, 1980.

QUEIROZ, E. A. **Níveis de farelo de urucum (*Bixa orellana* L.) em rações à base de sorgo para poedeiras comerciais**. 27 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, 2006.

REBOUÇAS, T. N. H.; SÃO JOSÉ, A. R. **A cultura do urucum: Práticas de cultivo e comercialização**. Vitória da Conquista: Sociedade Brasileira de Corantes Naturais, 1996.

RIOS, A. O. **Carotenóides de urucum: desenvolvimento de método analítico e avaliação da estabilidade em sistemas-modelo**. 147 p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas – SP, 2004.

RÜCKER, N. G. A.; MORSBACH, N. Situação atual e perspectivas da cultura do urucum: Estado do Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CORANTES NATURAIS E SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE URUCUM, III, 1996, Porto Seguro, BA. **Anais...** Porto Seguro, BA, 1996.

SCOTTER, M. J. Emerging and persistent issues with artificial food colours: natural colour additive as alternatives to sintetic colours in food and drink. **Quality Assurance and Safety of Crops & Foods**, v. 3, p. 28-39, 2011.

SHUHAMA, I. K.; AGUIAR, M. L.; OLIVEIRA, W. P.; FREITAS, L. A. P. Experimental production of annatto powders in spouted bed dryer. **Journal of Food Engineerring**, v. 59, p. 93-97, 2003.

SILVA, G. F.; CABRAL, F. A. Comparação da solubilidade da bixina do urucum em CO<sub>2</sub> supercrítico com dados da bibliografia. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, v. 4, n. 1 e 2, p. 39-43, 2000.

SILVA, F. A. L.; SILVA, M. G.; FABRI, E. G.; CARVALHO, P. R. N. Avaliação dos teores de geranilgeraniol em diferentes acessos de urucum. Extração, separação e purificação de geranilgeraniol extraídos de sementes de urucum. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA – CIIC 2011, 45º, 2011, Campinas, SP. **Anais...** Campinas, SP, 2011.

SILVA, J. H. V.; SILVA, E. L.; JORDÃO FILHO, J.; RIBEIRO, M. L. G.; COSTA, F. G. P. Resíduo da semente de urucum (*Bixa orellana* L.) como corante da gema, pele, bico e ovário de poedeiras avaliado por dois métodos analíticos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 5, p. 988-994, set./out., 2006.

SILVA, M. G.; LUIZ, F. A.; ROCHA, F. W.; LEAL, R. N.; CARVALHO, P. R. N. Validação do método analítico de determinação de geranilgeraniol em sementes de urucum. In: REUNIÃO NACIONAL DA CADEIA DE URUCUM, 2ª, 2010, Campinas, SP. **Palestras e Resumos**. Instituto Agrônômico e Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, SP, 2010.

SILVA, P. I. **Métodos de extração e caracterização de bixina e norbixina em sementes de urucum (*Bixa orellana* L.)**. 145 p. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2007.

STRINGHETA P. C., SILVA P. I. **Pigmentos de urucum: extração, reações químicas, usos e aplicações**, Suprema: Viçosa, Minas Gerais, 2008.

UTIYAMA, C. E. **Utilização do resíduo de sementes processadas de urucum (*Bixa orellana* L.) na alimentação de suínos em crescimento**. 43 p. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, São Paulo, 2001.

YABIKU, Y. H.; TAKAHASHI, M. Y. Avaliação dos métodos analíticos para a determinação de bixina em grãos de urucum e suas correlações. In: SEMINÁRIO DE CORANTES NATURAIS PARA ALIMENTOS, SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE URUCUM, 1991, Campinas, SP. **Resumos...** Campinas, SP: ITAL, 1991, 275-279.

## **CAPÍTULO 2**

### **CARACTERIZAÇÃO DE SEMENTES DE URUCUM (*Bixa orellana*) DAS CULTIVARES COMUM E PIAVE PRODUZIDAS NO ESTADO DO PARANÁ**

## RESUMO

Do urucum obtém-se os corantes naturais mais usados na indústria e ainda o geranilgeraniol, um componente com propriedades farmacológicas. As condições de pós-colheita e processamento e as diferentes cultivares influenciam a variabilidade do urucum. Ainda são escassos os trabalhos que caracterizam sementes de urucum por critérios de classificação e as informações sobre cultivares que podem servir para melhoramento genético e adequação às regiões produtoras. O objetivo deste trabalho foi comparar características físicas (atividade de água, cor instrumental, impurezas, densidade e volume médio) e químicas (umidade, bixina, lipídios e geranilgeraniol) de sementes de urucum de cultivares geralmente nominadas aqui por “Comum” frente à cultivar “Piave” produzidas no Paraná utilizando técnicas estatísticas multivariadas de Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise de Cluster (CA). O dendrograma permitiu observar a formação de cinco grupos, conforme as diferenças entre as cultivares. A PCA evidenciou que os dois primeiros componentes, PC1 e PC2, armazenaram 59,15% da variabilidade dos dados. Houve correlação positiva entre algumas variáveis, como umidade e atividade de água, umidade e geranilgeraniol, bixina e lipídios, bixina e ângulo hue ( $h^*$ ), lipídios e geranilgeraniol e cromaticidade ( $C^*$ ) e  $h^*$ . Os parâmetros físicos contribuíram para a maior diferença entre as amostras e as variáveis mostraram-se eficazes na caracterização das sementes, já que as técnicas multivariadas foram coerentes para identificar e distinguir grupos de similaridade. As sementes da cultivar Piave, comparadas às da cultivar Comum, apresentaram menores teores de umidade e geranilgeraniol. Entretanto, verificaram-se maiores níveis de bixina e lipídios. Apesar dos dados mostrarem as sementes da cultivar Comum com coloração mais viva que as da cultivar Piave, ambas tiveram tonalidade variando do vermelho ao alaranjado. Os resultados obtidos podem ser usados como parâmetro para pagamento diferenciado a produtores de sementes de melhor qualidade e direcionamento na obtenção de corantes específicos, conforme o objetivo da indústria, assim incentivando e melhorando a produção e exploração paranaense do urucum.

**Palavras-chave:** *Bixa orellana*, bixina, geranilgeraniol, análise multivariada, parâmetros de cor.

## ABSTRACT

Annatto is a raw material for obtaining the natural dyes commonly used in food industry. The seeds also contain the geranylgeraniol, a component with pharmacological properties. The conditions of post-harvest processing and the differences between cultivars influence the variability of annatto seeds produced in Brazil. There are few studies using the annatto seeds for some classification criteria and information about different cultivars which could be used for breeding work and proper use of each producing place. The aim of this study was compare the physical characteristics (water activity, instrumental color, impurities, density and average volume) and chemical (moisture, bixin, fat and geranylgeraniol) of annatto seeds from varieties "Comum" and "Piave" produced in state of Paraná using multivariate statistical technique such as Principal Component Analysis (PCA) and Cluster Analysis (CA). The dendrogram permitted to observe the constitution of five groups, according to the differences between the varieties. The Principal Component Analysis showed that the first two components PC1 and PC2, stored 59.15% of the data variability. It was observed a positive correlation between some variables such as moisture and water activity, moisture, and geranylgeraniol, bixin and fat, bixin and  $a^*$ , fat and geranylgeraniol and  $C^*$  and  $h^*$ . The physical parameters contributed to the major difference between samples and the variables were effective in annatto seeds characterization, since the multivariate techniques were consistent in the similar group's identification and distinction. The seeds from cultivar Piave presented lower moisture average and geranylgeraniol contents, but higher bixin and fat levels. The seeds from the "Comum" cultivar showed more vivid color than cultivar Piave and both were characterized by varying the chroma from red to orange. The obtained data are able to be used in a better exploitation of the Paraná state annatto production, as differentiated payment to best quality seeds producers and guidance in obtaining specific dyes by the industry.

**Key-words:** *Bixa orellana*, bixin, geranylgeraniol, multivariate analysis, color features.

## 1. INTRODUÇÃO

O urucum (*Bixa orellana*, L.) é um arbusto tropical, cujas sementes são revestidas pelo carotenoide vermelho conhecido como bixina. Dele são obtidos os corantes naturais mais usados na indústria (GHIRALDINI, 1996; CARVALHO, 1999).

A bixina é solúvel em solventes orgânicos e está presente nas preparações comerciais lipossolúveis de urucum. O pigmento norbixina, componente minoritário nas sementes, é encontrado nas preparações hidrossolúveis e obtido através da saponificação da bixina em meio alcalino (RIOS; MERCADANTE, 2004).

As sementes de urucum ainda contêm o geranilgeraniol, um álcool terpênico com importantes propriedades farmacológicas, presente na oleoresina das sementes em níveis próximos a 1%, que tornam o urucum uma fonte dessa substância (COELHO *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2010).

Após o a colheita e beneficiamento das sementes e principalmente durante o armazenamento, observa-se que a perda da qualidade do urucum está associada a alguns fatores, tais como teor de umidade, atividade de água dos grãos, temperaturas elevadas, exposição ao ar e alta umidade relativa do ambiente. Variações nesses fatores também acabam interferindo no rendimento industrial da produção dos pigmentos (CORRÊA *et al.*, 1991).

Além das condições de pós-colheita e de processamento, outro fator que influencia a variabilidade do urucum produzido no Brasil é a existência de cultivares com características distintas. Da extensa variedade conhecida entre a espécie de *Bixa orellana*, podem ser citadas as cultivares “Focinho de rato”, “Cabeça de moleque”, “Peruana”, “Bico de pato”, “Amarela”, “Wagner”, “Piave”, entre outras, diferenciadas pelo porte da planta, período de produção, forma e cor dos frutos e teor de pigmento (BALIANE, 1982; REBOUÇAS; SÃO JOSÉ, 1996).

Cada região produtora possui suas cultivares de interesse. No Nordeste brasileiro, a cultivar Piave produz grãos com teor de bixina em torno de 1,75% (FRANCO *et al.*, 2002). Em contrapartida, se plantada em solo paranaense e lavouras adequadamente conduzidas, a cultivar Piave produz grãos com teores de bixina que podem chegar até 6% (FRANCO *et al.*, 2008).

Alguns estudos, como o de Moraes *et al.* (1996), investigaram o efeito do armazenamento sobre os níveis de umidade, teor de lipídios e bixina de grãos de

urucum da cultivar Piave Vermelha. Corlett (2004) avaliou a qualidade fisiológica no armazenamento de sementes de urucum da cultivar Bico de Pato produzidas na Paraíba. Santana *et al.* (2008) avaliaram os teores de bixina de sementes de urucum da cultivar Piave colhidas na região Sudoeste da Bahia. Carvalho *et al.* (2010) avaliaram os teores de bixina, lipídios e umidade em sementes de diferentes origens produzidas no estado de São Paulo. Silva *et al.* (2011) propuseram uma metodologia para quantificar os teores de geranilgeraniol em sementes de urucum e compararam os resultados obtidos de diferentes cultivares com os teores de bixina e lipídios.

No entanto, ainda são escassos os trabalhos que buscam reunir as sementes de urucum por algum critério de classificação. As informações sobre as diferentes cultivares podem servir de base para trabalhos que buscam o melhoramento genético do urucum e para a utilização adequada a cada região produtora. Portanto, o objetivo deste trabalho foi, utilizando ferramentas estatísticas, comparar as características físicas (atividade de água, cor instrumental, impurezas, densidade e volume médio) e químicas (umidade, bixina, lipídios e geranilgeraniol) de sementes de urucum das cultivares “Comum” e “Piave” produzidas no estado do Paraná.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 SEMENTES DE URUCUM

Foram analisadas sementes de urucum provenientes de doze produtores (Tabela 2.1), colhidas entre os meses de abril e maio de 2011, acondicionadas em embalagens plásticas laminadas fechadas e armazenadas em congelador a -18 °C até o momento da utilização. A denominação “Comum” refere-se a uma mistura de cultivares não identificadas.

TABELA 2.1 – IDENTIFICAÇÃO DOS TRATAMENTOS, ORIGEM E CULTIVARES UTILIZADOS NA CARACTERIZAÇÃO DAS SEMENTES DE URUCUM

TRATAMENTO	ORIGEM	CULTIVAR
1	Paranacity – PR	Comum
2	Cruzeiro do Sul – PR	Comum
3	Paranacity – PR	Comum
4	Paranacity – PR	Comum
5	Paranacity – PR	Comum
6	Paranacity – PR	Piave
7	Uniflor – PR	Piave
8	Paranacity – PR	Piave
9	Uniflor – PR	Piave
10	Paranacity – PR	Piave
11	Paranacity – PR	Piave
12	Paranacity – PR	Piave

### 2.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

#### 2.2.1 Umidade

A análise do teor de umidade foi realizada por gravimetria em estufa a 105 °C, até massa constante, conforme método do Instituto Adolfo Lutz (2005).

#### 2.2.2 Bixina

A extração e determinação quantitativa do teor de bixina foi baseada na metodologia descrita por Silva *et al.* (2010). O pigmento extraído foi separado em um cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu, controlado pelo Software Class-VP, equipado com injetor manual Rheodyne, volume de injeção de 10 µL, bomba (LC-10AD) e detector UV-Vis (SPD-10A) operando a 460 nm. A análise foi conduzida



utilizando-se uma coluna Zorbax-ODS (4,6 x 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) com vazão de 1 mL  $\cdot\text{min}^{-1}$ .

Os solventes de grau cromatográfico, acetonitrila:metanol:clorofórmio:ácido acético 6% (60:20:10:10), foram previamente filtrados em membrana de 0,45  $\mu\text{m}$  antes de serem utilizados.

A quantificação foi realizada por padrão externo a partir da curva analítica construída pela injeção em triplicada da solução padrão de trabalho em seis concentrações diferentes (2,19  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  a 89  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), baseadas nas faixas esperadas dos seus teores nas amostras. O padrão de bixina utilizado na análise foi obtido conforme metodologia proposta por Rios (2004).

### 2.2.3 Atividade de água

Os valores de atividade de água ( $a_w$ ) das amostras foram determinados em higrômetro digital marca *Aqualab* série 3TE da Decagon Devices (Pullman, EUA).

### 2.2.4 Cor instrumental

Os parâmetros de cor das amostras foram medidos com um espectrofotômetro Hunter Lab Mini Scan XE Plus (Reston, EUA). O instrumento, equipado com iluminante D65/10°, foi calibrado utilizando uma placa preta e uma cerâmica padrão branca ( $X = 78,9$ ,  $Y = 83,9$ ,  $Z = 88,9$ ). O eixo  $L^*$  representa a luminosidade, de 0 (preto) a 100 (branco). Os parâmetros  $a^*$  e  $b^*$ , que expressam, respectivamente, o eixo verde/vermelho ( $-a^*/a^*$ ) e o eixo azul/amarelo ( $-b^*/b^*$ ), foram utilizados para calcular os parâmetros da escala  $L^*C^*h^*$  (Equações 2.1 e 2.2). A saturação ( $C^*$ ) corresponde ao grau de pureza de uma cor em relação à mistura com o cinza e o ângulo de tom ( $h^*$ ) representa as diferentes cores existentes (CIE, 1986; HUNTERLAB, 2000).

$$C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2} \quad (\text{Eq. 2.1})$$

$$h^* = \arctan(b^*/a^*) \quad (\text{Eq. 2.2})$$

### 2.2.5 Lipídios

O teor de lipídios foi determinado de acordo com Silva *et al.* (2010). Cerca de cinco gramas de sementes em cartucho de papel filtro qualitativo foram acondicionadas em extrator de Soxhlet, conectado a um balão de fundo chato de massa conhecida, contendo hexano. A extração foi conduzida por 8 horas e a porcentagem de lipídios foi determinada após pesagem do balão seco em estufa para evaporação do solvente ou umidade residual.

### 2.2.6 Geranilgeraniol

O óleo resultante da extração para determinação de lipídios foi retomado na fase móvel e a amostra injetada após filtragem em membrana de 0,45 µm.

A determinação foi baseada na metodologia descrita por Silva *et al.* (2010). A separação ocorreu em um cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu, controlado pelo Software Class-VP, equipado com injetor manual Rheodyne, volume de injeção de 5 µL, bomba (LC-10AD) e detector UV-Vis (SPD-10A) operando a 210 nm. A análise foi conduzida utilizando-se uma coluna Zorbax-ODS (4,6 x 250 mm, 5 µm) com vazão de 1 mL.min<sup>-1</sup>.

Os solventes de grau cromatográfico, metanol:acetato de amônia 50 mM (90:10), foram previamente filtrados em membrana de 0,45 µm antes de serem utilizados.

A quantificação foi realizada por padrão externo a partir da curva analítica construída pela injeção em triplicata da solução padrão de trabalho em cinco concentrações diferentes (122,7 µg.mL<sup>-1</sup> a 3068,5 µg.mL<sup>-1</sup>), baseadas nas faixas esperadas dos seus teores nas amostras, com padrão de geranilgeraniol (85%) da marca Sigma.

### 2.2.7 Impurezas

O teor de impurezas nas sementes de urucum foi determinado em triplicata, utilizando-se um conjunto vibratório de peneiras (marca Bertel, série 12-03). Cerca de cem gramas (100 g) de amostra foram submetidas à agitação e a porcentagem

de impurezas foi calculada após a pesagem do material separado das sementes.

#### 2.2.8 Densidade e volume médio

A densidade foi determinada em triplicata através da adaptação da metodologia utilizada por Fracasso (2011). A massa de 50 sementes foi dividida pelo volume deslocado depois de imersas em uma proveta (10 mL) contendo 5 mL de água destilada. O cálculo do volume das sementes baseou-se na divisão do volume de água deslocado na proveta pelo número de sementes imersas.

### 2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A Análise de Componentes Principais (PCA) e a Análise de Cluster (CA) foram conduzidas através da ferramenta computacional Statistica 7.0.

Na análise de componentes principais, a variância armazenada em cada componente principal é expressa pelos autovalores da matriz padronizada. O maior autovalor é associado ao primeiro componente principal, o segundo maior autovalor é associado ao segundo componente principal e assim sucessivamente. Desta forma, os primeiros componentes principais explicam, em sua maioria, grande parte da variância das variáveis originais (MARTEL *et al.*, 2003).

O dendrograma foi obtido utilizando como coeficiente de semelhança entre pares de locais e a distância Euclidiana como coeficiente de dissimilaridade. Segundo as características consideradas, quanto menor a distância entre dois locais, mais similares eles são (MARTEL *et al.*, 2003).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS

As características físicas das sementes de urucum são apresentadas na Tabela 2.2. A atividade de água das sementes de urucum variou de  $0,563 \pm 0,001$  a  $0,771 \pm 0,001$ . Sementes em geral são normalmente sujeitas a armazenamento por períodos prolongados de tempo, durante o qual podem ocorrer importantes alterações físico-químicas e microbiológicas, devido à continuidade do processo respiratório. Tais alterações são influenciadas pela umidade e pela atividade de água das sementes (PEDROSA; CIRNE; MELO NETO, 1999; MENKOV, 2000; SAMAPUNDO *et al.*, 2007). Segundo Rockland e Beuchat (1987), em alimentos com atividades de água abaixo de 0,6, nenhum crescimento microbiológico é observado. Apesar de apenas os tratamentos 8 e 10 apresentarem atividade de água abaixo do nível recomendado em literatura, as sementes só podem ser consideradas estáveis no armazenamento se as condições de umidade relativa do ambiente não favorecerem o aumento da atividade de água.

As amostras analisadas apresentaram teores de impurezas variando de  $0,47\% \pm 0,064$  até  $14\% \pm 1,875$ . A grande variabilidade deste parâmetro nas sementes pode ser explicada pelos diferentes métodos de beneficiamento adotados pelos produtores. De acordo com Franco *et al.* (2002), sementes com percentagem de impurezas acima de 5% são consideradas fora de especificação para comercialização. Para os dados apresentados na Tabela 2.2, verifica-se apenas que o tratamento número 8 apresentou teor de impurezas acima dessa especificação (Amostra Piave com  $13,992 \text{ g.}100 \text{ g}^{-1}$ ), com a presença de pedúnculos e fragmentos das cachopas.

A densidade das sementes de urucum avaliadas no presente experimento variou de  $0,84 \text{ g.cm}^{-3} \pm 0,011$  a  $1,21 \text{ g.cm}^{-3} \pm 0,114$ . Cunha (2008) encontrou valores de densidade nas sementes de urucum que variaram de  $1,119 \text{ g g.cm}^{-3}$  a  $1,1436 \text{ g.cm}^{-3}$ . O autor ressalta a importância do conhecimento das propriedades físicas, como densidade e volume médio, no entendimento dos fenômenos de fluidodinâmica e projeto de equipamentos de extração mecânica do pigmento.

As sementes apresentaram um volume médio variando entre  $0,016 \text{ cm}^3 \pm 0$  e

$0,026 \text{ cm}^3 \pm 0,002$ . Os valores estão em concordância com os determinados por Cunha (2008), que variaram de  $0,0206 \text{ cm}^3$  a  $0,0266 \text{ cm}^3$ .

A análise colorimétrica evidenciou uma croma variando do vermelho ao alaranjado, sendo que as sementes da cultivar Comum mostraram uma coloração mais viva (maiores valores de  $C^*$ ) e mais próxima da tonalidade laranja.

TABELA 2.2 – CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE SEMENTES DE URUCUM

TRATAMENTO	PARÂMETRO					
	Atividade de água	Impurezas (g.100 g <sup>-1</sup> )	Densidade (g/cm <sup>3</sup> )	Volume médio (cm <sup>3</sup> )	Cor	
					C*	Ângulo h
1	0,694 ± 0,009	2,37 ± 0,20	1,03 ± 0,04	0,022 ± 0	31,35 ± 0,51	38,21 ± 0,70
2	0,687 ± 0,005	0,68 ± 0,12	1,21 ± 0,11	0,022 ± 0	28,52 ± 0,99	34,90 ± 0,34
3	0,701 ± 0,002	0,95 ± 0,26	1,09 ± 0,05	0,026 ± 0,002	31,63 ± 0,87	36,64 ± 0,66
4	0,657 ± 0,003	0,47 ± 0,06	0,99 ± 0,04	0,024 ± 0	29,21 ± 0,38	34,98 ± 0,32
5	0,731 ± 0,004	1,09 ± 0,40	1,00 ± 0,11	0,022 ± 0	27,09 ± 0,89	35,35 ± 0,52
6	0,668 ± 0,003	0,69 ± 0,12	1,13 ± 0,14	0,021 ± 0,003	27,99 ± 1,61	34,68 ± 0,49
7	0,708 ± 0,006	1,24 ± 0,06	0,97 ± 0,05	0,024 ± 0	29,95 ± 1,30	35,23 ± 0,60
8	0,563 ± 0,001	14,0 ± 1,87	0,84 ± 0,05	0,016 ± 0	28,99 ± 1,47	38,05 ± 0,69
9	0,679 ± 0,003	1,33 ± 0,01	1,02 ± 0,01	0,02 ± 0	28,08 ± 0,36	34,52 ± 0,40
10	0,585 ± 0,014	2,91 ± 0,32	0,90 ± 0,01	0,018 ± 0,002	30,52 ± 1,13	36,26 ± 0,27
11	0,771 ± 0,001	4,65 ± 0,40	0,94 ± 0,01	0,018 ± 0	27,01 ± 0,64	34,68 ± 0,95
12	0,601 ± 0,012	4,95 ± 0,05	1,10 ± 0,13	0,018 ± 0,002	28,69 ± 0,85	37,99 ± 0,45

### 3.2 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS

Na Tabela 2.3 são apresentadas as características químicas da semente de urucum.

TABELA 2.3 – CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DA SEMENTE DE URUCUM

TRATAMENTO	PARÂMETRO (g.100 g <sup>-1</sup> )			
	Umidade	Bixina <sup>a</sup>	Lipídios <sup>a</sup>	Geranilgeraniol <sup>a</sup>
1	2,67 ± 0,35	2,98 ± 0,24	2,36	0,45 ± 0,01
2	3,02 ± 0,26	2,85 ± 0,38	2,43	0,88 ± 0,01
3	2,32 ± 0,21	3,27 ± 0,44	2,60	0,61 ± 0,02
4	2,42 ± 1,21	2,82 ± 0,26	3,31	0,96 ± 0,01
5	3,85 ± 0,18	2,88 ± 0,25	2,64	0,89 ± 0,01
6	2,45 ± 0,10	3,51 ± 0,22	2,91	0,98 ± 0,01
7	3,21 ± 0,37	7,22 ± 0,04	2,80	0,87 ± 0,02
8	2,10 ± 0,29	8,07 ± 1,03	3,14	0,51 ± 0,02
9	2,34 ± 0,09	4,33 ± 0,17	2,82	0,57 ± 0,02
10	2,35 ± 0,54	6,90 ± 0,17	3,26	0,99 ± 0,03
11	3,56 ± 0,13	6,41 ± 1,40	2,99	0,58 ± 0,01
12	2,29 ± 0,14	3,93 ± 0,89	2,96	0,64 ± 0,01

NOTA: a = resultado em base seca.

O teor de umidade das sementes de urucum variou de 2,10 g.100 g<sup>-1</sup> ± 0,29 a 3,85 g.100 g<sup>-1</sup> ± 0,18. Corrêa *et al.* (1991) estudaram as propriedades termodinâmicas do grão de urucum e determinaram a umidade ideal de 9,5 g.100 g<sup>-1</sup> para secagem entre 25 e 40 °C. Acima desse teor de umidade, os autores afirmam que pode ocorrer uma série de alterações, como escurecimento enzimático, contaminação microbiológica e perda do corante. Abaixo desse valor, como foi o caso das amostras analisadas no presente estudo, pode haver risco de oxidação de lipídios, alteração na cor e perdas por atrito durante o transporte. Segundo Pedrosa, Cirne e Melo Neto (1999), durante o armazenamento, as sementes respiram continuamente, consumindo suas reservas químicas e transformando-as em água, calor e dióxido de carbono. Esses produtos das reações interferem diretamente na diminuição da qualidade do produto.

Os níveis do carotenoide bixina (base seca) variaram de 2,82 g.100 g<sup>-1</sup> ± 0,26 a 8,07 g.100 g<sup>-1</sup> ± 1,03, sendo que algumas amostras das sementes da cultivar Piave chegaram a apresentar mais que o dobro dos teores de bixina das sementes da cultivar Comum. Na Figura 2.1 é apresentado o cromatograma característico da análise de bixina para as amostras de semente de urucum do presente estudo.

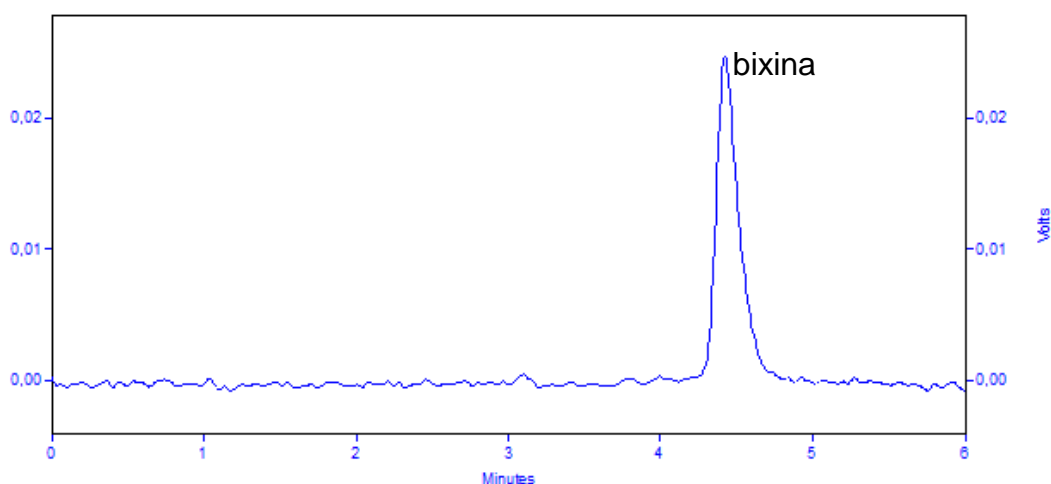


FIGURA 2.1 – CROMATOGRAMA DA ANÁLISE DO TEOR DE BIXINA EM AMOSTRA DE SEMENTE DE URUCUM, OBTIDO DE ACORDO COM AS CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS ESPECIFICADAS NO TEXTO.

Rivera-Madrid *et al.* (2006) encontraram teores de bixina variando de 0,24 a 1,1 g.100 g<sup>-1</sup> em três cultivares mexicanas estudadas. Santana *et al.* (2008), ao analisarem sementes da cultivar Piave no sudoeste da Bahia, relataram teores de aproximadamente 2,6 g.100 g<sup>-1</sup> de bixina. Segundo Franco *et al.* (2008), a cultivar Piave plantada na região oeste do estado de São Paulo pode chegar a níveis de 6 g.100 g<sup>-1</sup> de bixina. Kimura e Rodriguez-Amaya (2002) explicam que a composição de carotenoides nos alimentos pode variar consideravelmente. Um determinado alimento pode apresentar uma variação na composição devido a fatores como cultivar, clima, localização geográfica, grau de maturação e parte da planta utilizada.

As sementes de urucum apresentaram teores de lipídios (em base seca) de 2,36 g.100 g<sup>-1</sup> até o valor máximo de 3,31 g.100 g<sup>-1</sup>. Os teores de geranilgeraniol variaram de 0,45 g.100 g<sup>-1</sup> ± 0,01 a 0,99 g.100 g<sup>-1</sup> ± 0,03. Resultados próximos aos relatados por Silva *et al.* (2010) de 0,3 a 0,7 g de geranilgeraniol por 100 g de sementes produzidas no estado de São Paulo. Na Figura 2.2 é apresentado o cromatograma típico da análise de geranilgeraniol nas sementes de urucum avaliadas no presente estudo.



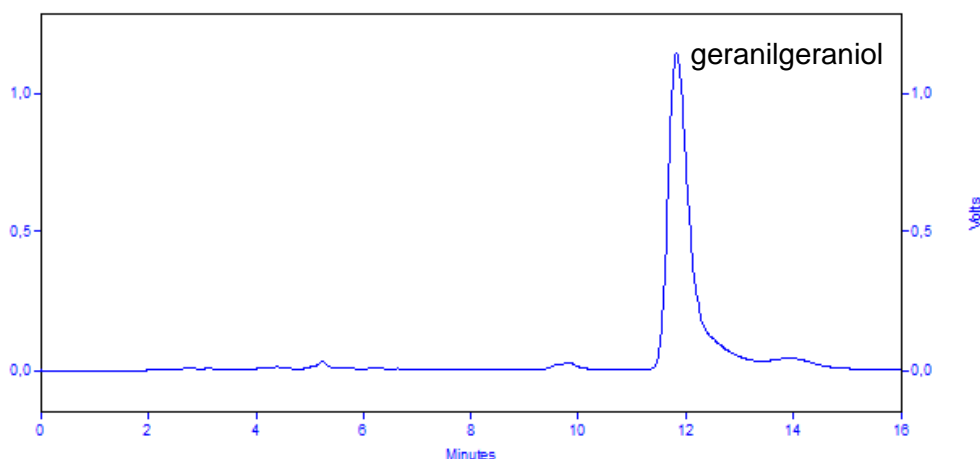


FIGURA 2.2 – CROMATOGRAMA DA ANÁLISE DO TEOR DE GERANILGERANIOL EM AMOSTRA DE SEMENTE DE URUCUM, OBTIDO DE ACORDO COM AS CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS ESPECIFICADAS NO TEXTO.

### 3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA

Levando-se em conta a matriz de distância Euclidiana média padronizada, foi obtido um dendrograma para distinção dos grupos entre as sementes de urucum (Figura 2.3). Ao considerar uma distância de ligação de 35% no dendrograma, observa-se, de acordo com os parâmetros avaliados, a formação de cinco grupos. O grupo I reúne os tratamentos 1, 3, 2, 6, 9, 4 e 5, composto, em sua maioria, pelas amostras de sementes da cultivar Comum. O restante dos grupos reúne as amostras da cultivar Piave. O grupo II é composto pelos tratamentos 7 e 10, os grupos III e IV pelos tratamentos 12 e 11, respectivamente e o grupo V pelo tratamento 8.

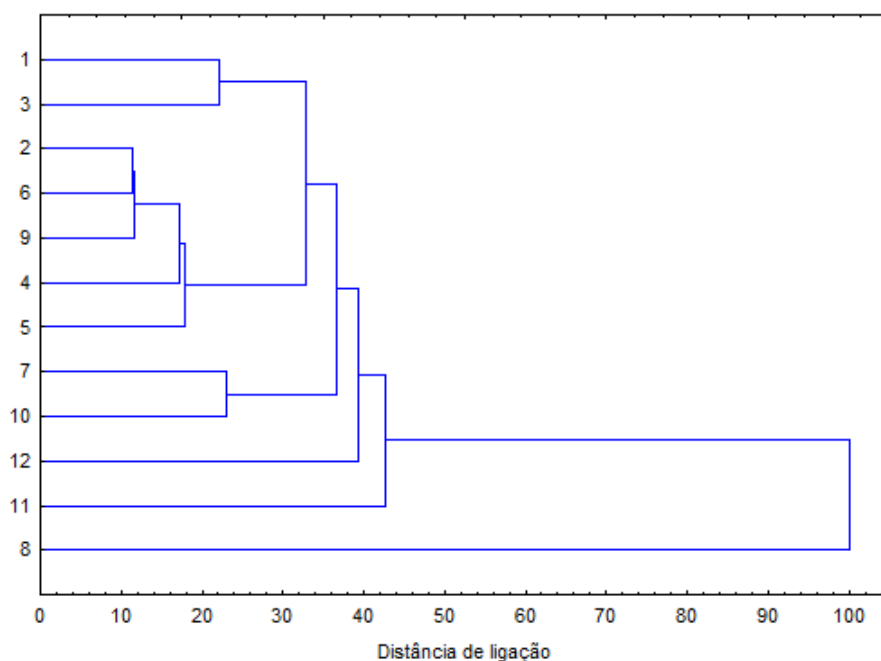


FIGURA 2.3 – DENDROGRAMA DE DISSIMILARIDADE DE CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE SEMENTES DE URUCUM DE DIFERENTES PROCEDÊNCIAS

As diferenças entre os agrupamentos estabelecidas pelo método mostram a ampla variabilidade entre as amostras, não podendo ser atribuída apenas pelas cultivares de sementes Comum e Piave, nem está representada pelo local de produção, já que amostras de mesma origem não foram classificadas no mesmo grupo. Além da diferença entre as cultivares e local de origem, a variabilidade pode estar relacionada ao processo de colheita e beneficiamento das sementes, sendo a heterogeneidade encontrada inclusive em sementes oriundas de um mesmo local.

A partir da análise de componentes principais (Figura 2.4), é possível notar que os dois primeiros componentes, PC1 e PC2, armazenaram 59,15% da variabilidade dos dados apresentados nas Tabelas 2.2 e 2.3.

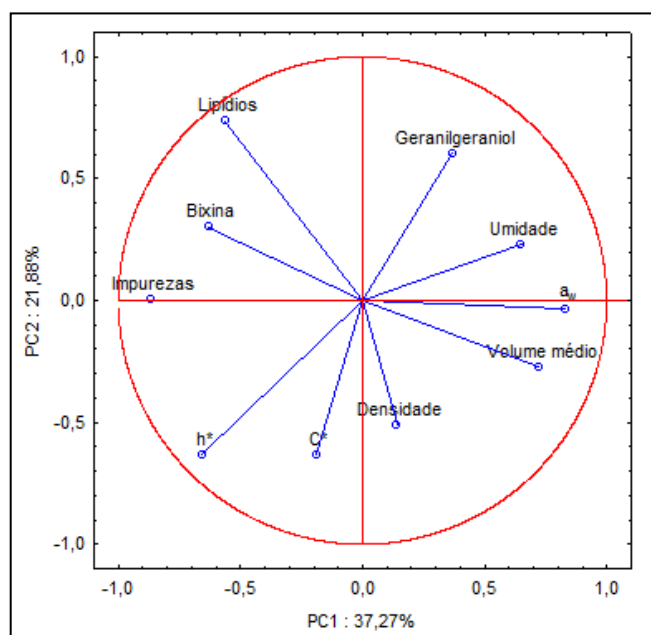


FIGURA 2.4 – ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS DE 12 AMOSTRAS DE SEMENTES DE URUCUM

De acordo com a Tabela 2.4, verifica-se que a análise mostrou correlação positiva entre algumas variáveis estudadas, como teor de umidade e atividade de água (77,66%), umidade e geranilgeraniol (19,67%), bixina e lipídios (50,70%), bixina e  $h^*$  (13,7%), lipídios e geranilgeraniol (29,02%) e  $C^*$  e  $h^*$  (53,65%).

A porcentagem de impurezas, os valores de atividade de água e o volume médio das sementes foram as características que mais contribuíram para a diferença entre as amostras analisadas, acumulando mais de 50% da variabilidade, de acordo com a Tabela 2.5. Ainda de acordo com a tabela, é verificado que as características químicas das sementes (umidade, bixina, lipídios e geranilgeraniol) foram responsáveis por cerca de 34% da variabilidade entre as amostras analisadas.

TABELA 2.4 – CORRELAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS QUÍMICAS E FÍSICAS DAS SEMENTES DE URUCUM

	<b>Umidade</b>	<b>Bixina</b>	<b>Lipídios</b>	<b>Geranilgeraniol</b>	<b>a<sub>w</sub></b>	<b>Impurezas</b>	<b>Densidade</b>	<b>Volume médio</b>	<b>C*</b>	<b>h*</b>
Umidade	1,000	-0,075	-0,351	0,196	0,776	-0,309	0,162	0,180	-0,488	-0,452
Bixina	-0,075	1,000	0,507	-0,138	-0,325	0,649	-0,019	-0,561	0,011	0,137
Lipídios	-0,351	0,507	1,000	0,290	-0,523	0,365	-0,641	-0,449	-0,171	-0,074
Geranilgeraniol	0,196	-0,138	0,290	1,000	-0,041	-0,504	-0,239	0,266	-0,162	-0,548
a <sub>w</sub>	0,776	-0,325	-0,523	-0,041	1,000	-0,555	0,162	0,505	-0,261	-0,546
Impurezas	-0,309	0,649	0,365	-0,504	-0,555	1,000	-0,030	-0,733	-0,071	0,582
Densidade	0,162	-0,019	-0,641	-0,239	0,162	-0,030	1,000	-0,127	-0,036	0,118
Volume médio	0,180	-0,561	-0,449	0,266	0,505	-0,733	-0,127	1,000	0,399	-0,282
C*	-0,488	0,011	-0,171	-0,162	-0,261	-0,071	-0,036	0,399	1,000	0,536
h*	-0,452	0,137	-0,074	-0,548	-0,546	0,582	0,118	-0,282	0,536	1,000

TABELA 2.5 – CONTRIBUIÇÕES DAS VARIÁVEIS UTILIZADAS NA CARACTERIZAÇÃO DAS SEMENTES DE URUCUM, COM BASE NAS CORRELAÇÕES

	PC1	PC2
Umidade	0,113	0,023
Bixina	0,106	0,041
Lipídios	0,084	0,247
Geranilgeraniol	0,036	0,166
$a_w$	0,185	0,001
Impurezas	0,202	0,000
Densidade	0,005	0,119
Volume médio	0,140	0,034
C*	0,009	0,183
h*	0,115	0,182

As Figuras 2.5 e 2.6 apresentam outra maneira de ilustrar a concordância entre as principais variáveis estudadas, na forma de gráficos de superfície tridimensional e ajuste quadrático.

Segundo Souza *et al.* (2008), as técnicas de análise multivariada apresentam a vantagem, em relação aos métodos de análise univariada, de avaliar a importância de cada característica estudada sobre a variação total disponível entre os tratamentos, possibilitando descartar os caracteres menos discriminantes, que já estejam correlacionados com outras variáveis ou pela sua invariância.

Carvalho *et al.* (2010), ao analisarem 34 amostras de sementes de urucum, verificaram resultados superiores à média registrada no comércio, com variação nos teores de bixina de 3,12% a 6,26%, umidade de 2,86% a 8,56% e lipídios de 1,97% a 3,98%, não observando correlação entre concentração de bixina, lipídios e umidade. Os autores sugerem que os melhores resultados para utilização na indústria de corantes são o alto teor de carotenoides e o baixo teor de lipídios, que facilitam o processo de extração alcalina usado pelas indústrias. Já a maior concentração de carotenoides e lipídios pode ser interessante para as indústrias que utilizam extração do corante com óleo vegetal.

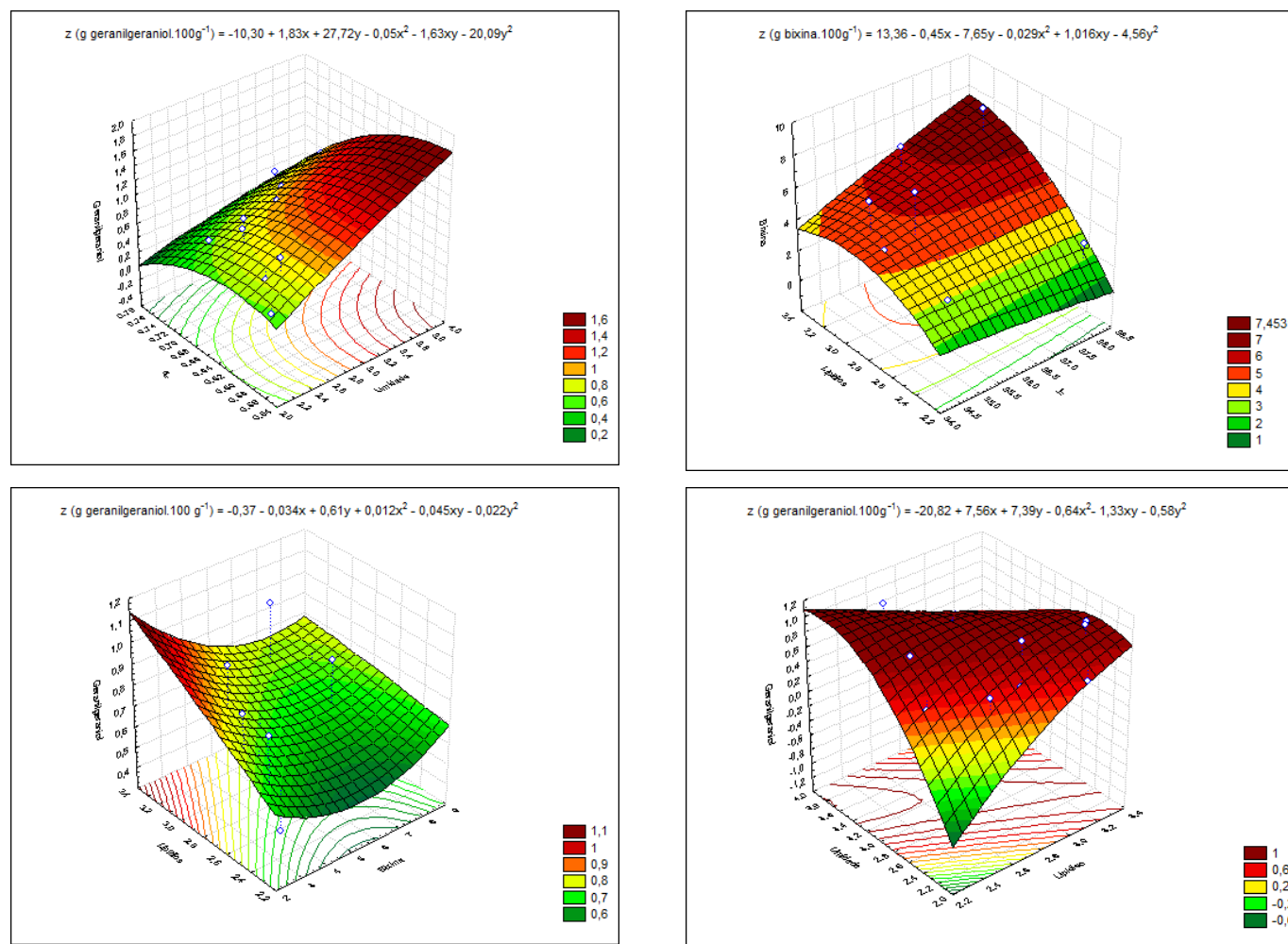


FIGURA 2.5 – SUPERFÍCIES DE RESPOSTA PARA CORRELAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS ESTUDADAS NA CARACTERIZAÇÃO DAS SEMENTES DE URUCUM

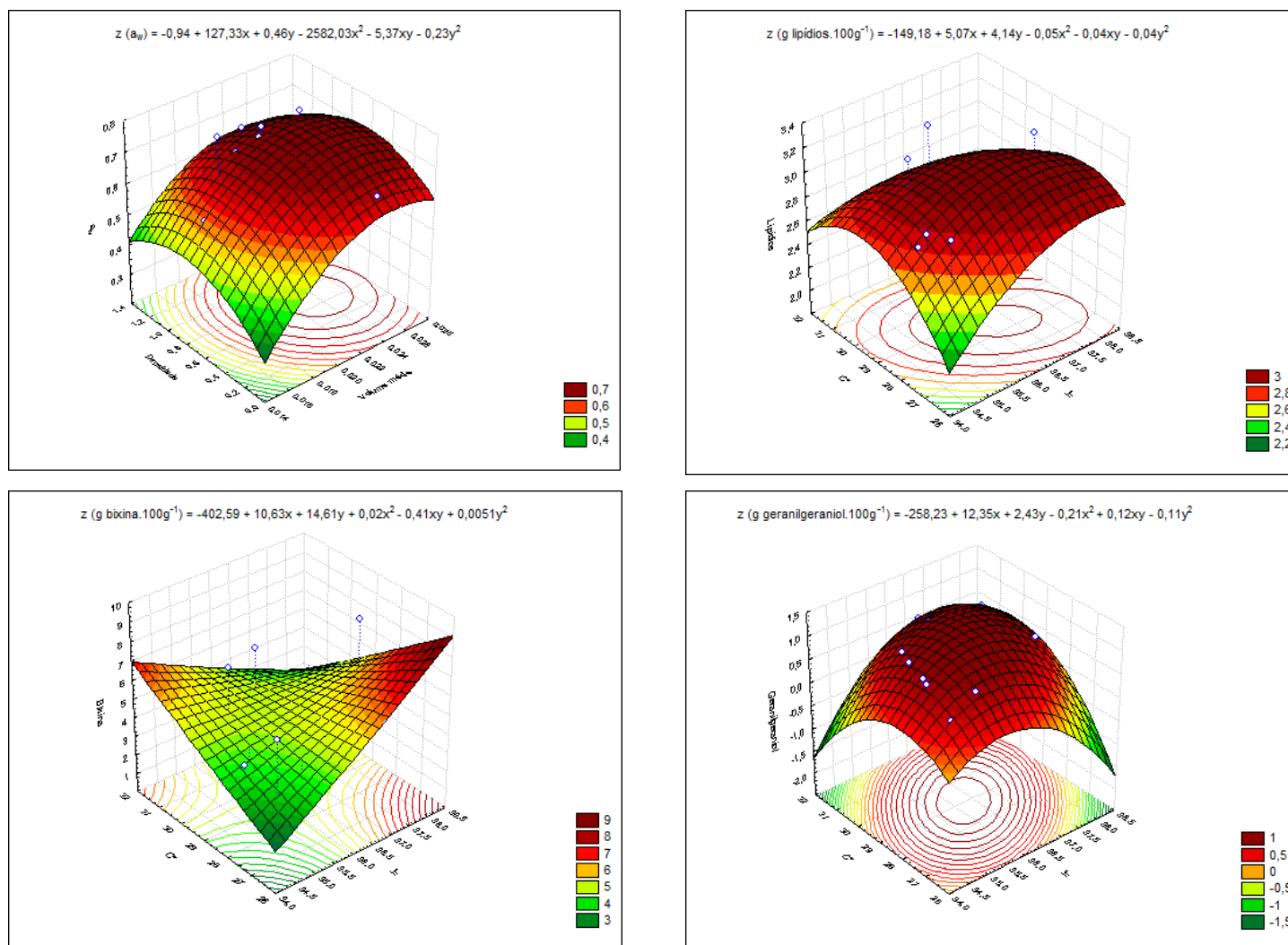


FIGURA 2.6 – SUPERFÍCIES DE RESPOSTA PARA CORRELAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS ESTUDADAS NA CARACTERIZAÇÃO DAS SEMENTES DE URUCUM

## 4 CONCLUSÃO

As variáveis estudadas utilizando-se as técnicas multivariadas permitiram a distinção de grupos de similaridade entre as amostras analisadas das cultivares de urucum produzidas no Paraná.

As características físicas foram responsáveis pela maior variabilidade entre as sementes. Com relação às características químicas, as sementes da cultivar Piave apresentaram, em comparação com as sementes da cultivar Comum, menores teores médios de umidade e geranilgeraniol. Entretanto, foram verificados maiores níveis médios de bixina e lipídios. Apesar das sementes da cultivar Comum apresentarem uma coloração mais viva que as da cultivar Piave, ambas foram caracterizadas por uma tonalidade variando do vermelho ao alaranjado.

Houve correlação positiva entre os teores de umidade e atividade de água, umidade e geranilgeraniol, bixina e lipídios, bixina e  $h^*$ , lipídios e geranilgeraniol e  $C^*$  e  $h^*$ .

Os resultados obtidos podem ser utilizados para uma melhor exploração da produção estadual de urucum, e além do pagamento diferenciado aos produtores que fornecem sementes de melhor qualidade, as diferenças entre as matérias-primas podem servir para direcionamento na obtenção de corantes específicos, de acordo com o objetivo da indústria.

Através das correlações entre os parâmetros avaliados, sugere-se que, pela facilidade e rapidez, as análises colorimétricas e de atividade de água possam ser utilizadas na estimativa de outros fatores de qualidade da semente de urucum. A maioria das determinações químicas é dependente de metodologias demoradas, operadores capacitados e consumo de solventes.



## REFERÊNCIAS

BALIANE, A. **A cultura do urucueiro**. Rio de Janeiro: Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural, 1982, 10 p.

CARVALHO, P. R. N. Urucum: avanços tecnológicos e perspectivas. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 49, n. 1, 1999.

CARVALHO, P. R. N.; SILVA, M. G.; FABRI, E. G.; TAVARES, P. E. R.; MARTINS, A. L. M.; SPATTI, L. R. Concentração de bixina e lipídios em sementes de urucum da coleção do IAC. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 3, p. 519-524, 2010.

CIE. (1986) **CIE Publications**. 15.2.CIE, Vienna, Austria.

COELHO, A. M. S. P.; SILVA, G. A.; VIEIRA, O. M. C.; CHAVASCO, J. K. Atividade antimicrobiana de *Bixa orellana* L. (Urucum). **Revista Lecta**, v. 21, n.1, p. 47-54, 2003.

CORRÊA, T. B. S.; RODRIGUES, H. R.; WILBERG, V. C.; SOARES, A. G. Determinação das propriedades termodinâmicas da semente de urucum (*Bixa orellana* L.) In: SEMINÁRIO DE CORANTES NATURAIS PARA ALIMENTOS, II. SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE URUCUM, I, 1991, Campinas, SP. **Resumos...** Campinas, SP. 1991.

CORLETT, F. M. F. Qualidade fisiológica de sementes de urucum (*Bixa orellana* L.) armazenadas em diferentes ambientes e embalagens. 94 p. **Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Sementes)**. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2004.

CUNHA, F. G. Estudo da extração mecânica de bixina das sementes de urucum com leite de jorro. 92 p. **Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)**. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2008.

FRACASSO, A. F. Cinética de hidratação de soja: estudo comparativo entre soja transgênica e convencional. 124 p. **Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)**. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

FRANCO, C. F. O.; FABRI, E. G.; BARREIRO NETO, M.; MANFIOLI, M. H.; HARDER, M. N. C.; RUCKER, N. G. A. **Urucum: sistemas de produção para o**

**Brasil.** João Pessoa: EMEPA, 2008.

FRANCO, C. F. O.; SILVA, F. C. P.; CAZÉ FILHO, J.; BARREIRO NETO, M.; SÃO JOSÉ, A. R.; REBOUÇAS, T. N. H.; FONTINELLI, I. S. C. **Urucum: agronegócio de corantes naturais**. João Pessoa: EMEPA, 2002.

GHIRALDINI, J. E. Corantes naturais comumente usados na indústria de alimentos. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, v. 2, n. 1, p. 136-145, 1996.

HUNTERLAB. **What is color and how is measured**. Applications Note, v. 12, n. 5, p.1-8, 2000.

IAL – INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v. 1, São Paulo: O Instituto, 2005.

KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A scheme for obtaining standard and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. **Food Chemistry**, n. 78, p. 389-398, 2002.

MARTEL, J. H. I.; FERRAUDO, A. S.; MÔRO, J. R.; PERECIN, D. Estatística multivariada na discriminação de raças amazônicas de pupunheiras (*Bactris gasipaes* Kunth) em Manaus (Brasil). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 115-118, abril, 2003.

MENKOV, N. D. Moisture sorption isotherms of chickpea seeds at several temperatures. **Journal of Food Engineering**, n. 45, p. 189-194, 2000.

MORAES, E. C.; DURIGAN, J. F.; ARAÚJO, J. A. C.; BANZATTO, D. A. COSTA, J. P. C; CONCEIÇÃO, C. C. C.; RODRIGUES, V. L. F.. Efeito do armazenamento sobre os graus de umidade, óleo e bixina de grãos de urucu (*Bixa orellana* L.) var. Piave Vermelha. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, v. 2, n. 1, p. 75-79, 1996.

PEDROSA, J. P.; CIRNE, L. E.; MELO NETO, J. M. Teores de bixina e proteínas em sementes de urucum em função do tipo e do período de armazenagem. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 3, n. 1, p. 121-123, 1999.

REBOUÇAS, T. N. H.; SÃO JOSÉ, A. R. **A cultura do urucum: Práticas de cultivo e comercialização**. Vitória da Conquista: Sociedade Brasileira de Corantes Naturais, 1996.

RIOS, A. O. **Carotenóides de urucum: desenvolvimento de método analítico e avaliação da estabilidade em sistemas-modelo**. 147 p. 2004. Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas – SP.

RIOS, A. O.; MERCADANTE, A. Z. Otimização das condições para obtenção de padrão de bixina e das etapas de extração e saponificação para quantificação de bixina em “snacks” extrusados por CLAE. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 15, n. 3, p. 203-213, 2004.

RIVERA-MADRID, R.; ESCOBEDO, R. M.; BALAM-GALERA, E.; VERA-KU, M.; HARRIES, H. Preliminary studies toward genetic improvement of annatto (*Bixa orellana* L.). **Scientia Horticulturae**, n. 109, 165-172, 2006.

ROCKLAND, L. B.; BEUCHAT, L. R. **Water activity: theory and applications to food**. Marcel Dekker: Nova Iorque, 1987.

SAMAPUNDO, S.; DEVLIEGHIERE, F.; DE MEULENAER, B.; ATUKWASE, A.; LAMBONE, Y.; DEBEVERE, J. M. Sorption isotherms and isosteric heats sorption of whole yellow dent corn. **Journal of Food Engineering**, n. 79, p. 168-175. 2007.

SANTANA, K. C.; GUEDES, P. A.; REBOUÇAS, T. N. H.; SÃO JOSÉ, A. R. S.; LEMOS, O. L.; VILA, M. T. R.; SOUZA, M. J. L. Teores de bixina em urucum (*Bixa orellana*) “Piave vermelha”, em diferentes acondicionamentos e temperaturas. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**. João Pessoa, v. 2, n. 1, p. 19-22, mar. 2008.

SILVA, F. A. L.; SILVA, M. G.; FABRI, E. G.; CARVALHO, P. R. N. Avaliação dos teores de geranilgeraniol em diferentes acessos de urucum. Extração, separação e purificação de geranilgeraniol extraídos de sementes de urucum. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA – CIIC 2011, 45º, 2011, Campinas, SP. **Anais...** Campinas, SP, 2011.

SILVA, M. G.; LUIZ, F. A.; ROCHA, F. W.; LEAL, R. N.; CARVALHO, P. R. N. Validação do método analítico de determinação de geranilgeraniol em sementes de urucum. In: REUNIÃO NACIONAL DA CADEIA DE URUCUM, 2ª, 2010, Campinas, SP. **Palestras e Resumos**. Instituto Agrônomo e Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, SP, 2010.

SOUZA, J. M. L.; NEGREIROS, J. R. S.; ÁLVARES, V. S.; LEITE, F. M. N.; SOUZA, M. L.; REIS, F. S.; FELISBERTO, F. A. V. Variabilidade físico-química da farinha de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n. 28, v. 4, p. 907-912, out.-dez., 2008.

### **CAPÍTULO 3**

#### **OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DE PADRÃO CROMATOGRÁFICO DE BIXINA**

## RESUMO

O corante de urucum é encontrado na forma de pó ou em misturas lipossolúveis e hidrossolúveis. A bixina é o pigmento majoritário do urucum, um carotenoide sensível à luz e à temperatura ambiente. Apesar dos carotenoides totais de urucum poderem ser determinados por espectrofotometria, os isômeros apresentam comprimento de onda muito próximo ao do carotenóide que o originou, tornando-se praticamente impossível uma determinação precisa através da leitura do extrato total, por isso, o uso de CLAE é mais indicado, apesar da necessidade de padrões disponíveis com alta pureza e estabilidade. O objetivo do presente trabalho foi comparar duas metodologias disponíveis em literatura para isolamento de um padrão cromatográfico de bixina de elevada pureza e estudar seu comportamento durante armazenagem quando imersos ou não em etanol e sob diferentes condições de temperatura ao longo de 90 dias. Os padrões foram obtidos por extração com acetato de etila e extração com solução alcoólica amoniacal e apresentaram uma pureza média de 97% e 95%, respectivamente. As amostras que não sofreram imersão em etanol apresentaram degradação de 23% a 74% do teor inicial de bixina. O armazenamento do padrão imerso em etanol foi efetivo na manutenção do pigmento sem alterações até 45 dias sob congelamento. A influência da temperatura não foi significativa na concentração do pigmento obtido pelas duas metodologias de extração, mantendo-se estável imerso em etanol por até cerca de 50 dias. As diferentes características morfológicas das partículas podem ser atribuídas aos diferentes solventes e temperaturas de extração utilizadas.

**Palavras-chave:** *Bixa orellana*, bixina, padrão cromatográfico, CLAE.

## ABSTRACT

Annatto dye is found in powder, liposoluble or hydrosoluble mixtures. Bixin is the major pigment of annatto, a carotenoid sensitive to light and temperature exposure. Although the total annatto carotenoid can be determined spectrophotometrically, the isomers exhibit wavelength close to the original, what difficults a precise determination using total extract reading. Therefore, the use of HPLC is more suitable, despite the need for available standards with high purity and stability. The aim of this study was to compare two refereed methods for the isolation of a high purity bixin chromatographic standard and study their behavior when stored immersed in ethanol or not and under different temperature conditions during 90 days. The standards were obtained by extraction with ethyl acetate and extraction with alcoholic ammonia solution, and presented 97% and 95% of purity, respectively. The samples that were not immersed in ethanol presented a bixin degradation ranging from 23 to 74%. Standards storage under freezing with immersion in ethanol was effective to maintain the pigment levels until 45 days when compared to standard samples without immersion. The storage temperature did not affect the pigment concentration for up to 50 days. The different particles morphology can be assigned to different extraction solvents and temperatures used.

**Key-words:** *Bixa orellana*, bixin, chromatographic standard, HPLC.

## 1. INTRODUÇÃO

O corante de urucum, que pode ser encontrado na forma de pó ou em misturas lipossolúveis e hidrossolúveis, é obtido das sementes de *Bixa orellana* L., uma planta originária da América Tropical, e o Brasil figura como um dos maiores produtores e exportadores das sementes (GOUVEIA; MOURA; MEDEIROS, 2000).

A bixina é o pigmento majoritário do pericarpo das sementes de urucum, um diapocarotenoide ( $C_{25}H_{30}O_4$ ), presente nos extratos comerciais lipossolúveis e no colorífico (TOCCHINI; MERCADANTE, 2001; RIOS; MERCADANTE, 2004). Já a norbixina é encontrada em menor quantidade nas sementes, sendo o principal pigmento das preparações hidrossolúveis e pode ser obtida pela saponificação da bixina em meio alcalino e solúvel em solventes polares (MERCADANTE, 1998).

Durante a extração e outras etapas do processo de obtenção da bixina, podem ser formados vários produtos de rearranjo e degradação, devido à sua sensibilidade à luz e instabilidade à temperatura ambiente (STRINGHETA; SILVA, 2008).

Vários autores relatam estudos sobre degradação de bixina conduzidos sob leitura do extrato total em espectrofotômetro no comprimento de onda máximo (NAJAR; BOBBIO; BOBBIO, 1988; CARVALHO *et al.*, 1993; PIMENTEL; STRINGHETA, 1999). Apesar dos carotenoides totais de urucum poderem ser determinados por espectrofotometria, Rios (2004) explica que os isômeros apresentam comprimento de onda de absorção muito próximo ao do carotenoide original.

Stringheta e Silva (2008) reuniram os principais comprimentos de onda de máxima absorção da bixina e de seus isômeros e mostraram que, para o mesmo solvente, a cis-bixina, por exemplo, apresenta comprimento de onda de absorção máxima de 470 nm e a trans-bixina de 476 nm.

Assim, torna-se praticamente impossível acompanhar a formação de outros compostos no extrato total, através da simples leitura espectrofotométrica. Portanto, a separação cromatográfica dos componentes antes da detecção, como ocorre na análise por CLAE, é necessária para separar os possíveis produtos de isomerização e degradação na obtenção da bixina.

Na quantificação de bixina por CLAE, é necessário o uso de padrões que na

maioria das vezes não está disponível comercialmente ou possui alto custo. Rios (2004) isolou um padrão de bixina com 98% de pureza, através de cristalizações sucessivas. O autor ainda verificou a degradação da bixina durante aquecimento a temperaturas de 63 °C a 125 °C e detectou a formação de compostos de massa peso molecular por até 47 horas de aquecimento. E durante a reação de foto-sensitização da bixina, encontrou compostos idênticos aos formados durante o aquecimento.

Para obtenção de um padrão analítico, não disponível comercialmente, Scotter *et al.* (1994) isolaram e purificaram a cis e trans bixina e seus compostos de hidrólise. As amostras foram analisadas, identificadas e caracterizadas utilizando CLAE por fase reversa com detecção por arranjo de diodos. A espectrometria de massa e a ressonância magnética nuclear também foram empregadas como técnicas analíticas.

Oliveira (2005) também reforça que a inexistência no mercado de um padrão de bixina e norbixina, além da reduzida estabilidade destes compostos durante a estocagem leva à necessidade da difícil obtenção dos padrões no próprio laboratório de análise. O autor isolou os padrões de bixina através de recristalizações sucessivas em acetona, produzindo um composto com até 98% de pureza. O autor propôs ainda que, devido à baixa solubilidade da bixina, o pigmento pode ser armazenado imerso em solventes até o momento da sua utilização, sem que ocorram perdas significativas nas concentrações.

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi comparar duas metodologias disponíveis em literatura para isolamento de um padrão cromatográfico de bixina de elevada pureza e estudar o seu comportamento sob diferentes condições de temperatura e da imersão ou não em etanol absoluto ao longo de 90 dias através de análise por CLAE.



## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 MATÉRIA-PRIMA

Sementes de urucum provenientes de uma plantação comercial (Paranacity – PR) foram submetidas à determinação de umidade por gravimetria segundo metodologia do IAL (2005) e à quantificação espectrofotométrica do teor de bixina conforme Silva *et al.* (2007).

### 2.2 OBTENÇÃO DO PADRÃO CROMATOGRÁFICO DE BIXINA

Os padrões de bixina utilizados no experimento foram obtidos conforme duas diferentes metodologias disponíveis em literatura: extração com acetato de etila (AE) e extração com solução alcoólica amoniacal (AA).

#### 2.2.1 Extração com Acetato de Etila

A metodologia proposta por Rios (2004) consistiu resumidamente na extração da bixina através de lavagens prévias das sementes com hexano e metanol, para eliminação dos lipídios e compostos polares, respectivamente. Em seguida, foi realizada a extração com acetato de etila e secagem do extrato em evaporador rotativo. A cristalização da bixina ocorreu através da diluição em diclorometano e adição de etanol, com posterior resfriamento rápido e armazenagem em congelador por uma noite, seguida da filtração e lavagem com etanol antes da secagem dos cristais a vácuo por 24 horas a 25 °C.

#### 2.2.2 Extração com solução Alcoólica Amoniacal

O procedimento seguiu a metodologia desenvolvida por Oliveira (2005), com adaptações conforme descrito a seguir. Aproximadamente 250 g de sementes foram misturadas a uma solução alcoólica amoniacal (10%). Após agitação da mistura por cinco minutos, foi realizada uma filtração em peneira para retirada das sementes e

uma segunda filtragem em papel de filtro para remoção de materiais finos. Os primeiros cristais de bixina foram obtidos por precipitação com adição lenta de ácido acético ao filtrado até se verificar a neutralização ao cessar o desaparecimento dos vapores pela formação de acetato de amônia, seguindo-se uma rápida filtragem a vácuo. O material retido no filtro foi lavado com água para remoção do acetato de amônia, em seguida com éter etílico e hexano para remoção das impurezas, até a descoloração dos solventes. Procedeu-se outra lavagem com água seguida de acetona e secagem a vácuo sobre o papel de filtro. O filtrado foi redissolvido em pequena quantidade de solução alcoólica amoniacal e submetido a um aquecimento brando (50 °C) com posterior isolamento térmico para que o resfriamento em congelador fosse lento, favorecendo a melhor formação dos cristais, que foram filtrados a frio. As etapas de redissolução, cristalização e filtração foram repetidas e o material retido lavado com acetona e seco a vácuo por 24 horas a 25 °C.

## 2.3 ACONDICIONAMENTO DOS PADRÕES CROMATOGRÁFICOS DE BIXINA OBTIDOS

### 2.3.1 Acondicionamento da bixina sob atmosfera ambiente em frasco selado

As amostras de padrão de bixina obtidas pela extração com solução alcoólica amoniacal (OLIVEIRA, 2005), acondicionadas em frascos âmbar selados com silicone, foram armazenadas sob temperatura de congelamento (-12 °C) e ambiente (23 °C) e tiveram sua estabilidade monitorada a cada 15 dias por CLAE ao longo de 45 dias. A escolha das temperaturas de armazenagem foi baseada na recomendação dos fornecedores de padrões comerciais, que estabelecem condições de estocagem que variam desde congelamento até a temperatura ambiente.

### 2.3.2 Acondicionamento da bixina imersa em etanol absoluto em frasco selado

Aproximadamente 10 mg de cristais de bixina obtidos pelas diferentes metodologias de extração foram acondicionados em frascos âmbar, cobertos com 0,5 mL de etanol absoluto e selados com silicone. A estabilidade das amostras de

padrão de bixina armazenadas sob diferentes temperaturas (-12 °C, 5,5 °C e 23 °C) foi medida no tempo zero, aos 45 e 90 dias. O planejamento seguiu o delineamento experimental com dois fatores (tempo e temperatura), três níveis ( $3^2$ ) e três repetições no ponto central, totalizando 12 experimentos.

TABELA 3.1 – PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA ACONDICIONAMENTO DO PADRÃO CROMATOGRÁFICO DE BIXINA IMERSO EM ETANOL ABSOLUTO

Experimento	Fatores (valores codificados)		Fatores (valores reais)	
	Tempo (dias)	Temperatura (°C)	Tempo (dias)	Temperatura (°C)
1	-1	-1	0	-12
2	+1	-1	90	-12
3	-1	+1	0	23
4	+1	+1	90	23
5	-1	0	0	5,5
6	+1	0	90	5,5
7	0	-1	45	-12
8	0	+1	45	23
9	0	0	45	5,5
10	0	0	45	5,5
11	0	0	45	5,5
12	0	0	45	5,5

## 2.4 AVALIAÇÃO DO TEOR DE BIXINA POR CLAE

Foi utilizado cromatógrafo a líquido de alta eficiência Shimadzu, controlado pelo Software Class-VP, equipado com injetor manual Rheodyne, volume de injeção de 5 µL, bomba (LC-10AD) e detector UV-Vis (SPD-10A) operando em 470 nm e 510 nm. A análise foi conduzida utilizando-se uma coluna Symmetry C18 (4,6 x 75 mm, 3,5 µm) com vazão de fase móvel de 1,5 mL.min<sup>-1</sup>. Os solventes de grau cromatográfico, acetonitrila:ácido acético 2% (65:35), conforme Scotter *et al.* (1994), foram previamente filtrados em membrana de 0,45 µm de poro antes de

A quantificação de bixina foi realizada por padrão externo a partir da curva analítica construída pela injeção em triplicata da solução padrão de trabalho em cinco concentrações diferentes (2,19 µg.mL<sup>-1</sup> a 89 µg.mL<sup>-1</sup>), baseadas nas faixas esperadas dos seus teores nas amostras.

## 2.5 CARACTERIZAÇÃO MICROSCÓPICA

A análise morfológica das partículas de padrão de bixina foi conduzida em um microscópio eletrônico de varredura JEOL (JSM-6360 LV Scanning Eletron

Microscope) do Departamento de Microscopia Eletrônica da UFPR. As amostras foram fixadas em um suporte metálico com uma fita de cobre dupla-face e submetidas à metalização com ouro sob vácuo para torná-las eletricamente condutivas. A visualização ocorreu em aumentos de 330 a 20.000 vezes, com uma aceleração de voltagem de 15 kV.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes utilizadas como matéria-prima para obtenção do padrão apresentaram um teor médio de bixina de  $3,37 \text{ g.100 g}^{-1} \pm 0,37$  e  $2,38 \text{ g.100 g}^{-1} \pm 0,18$  de umidade. Tais valores foram úteis nas estimativas das proporções de solvente necessárias para obtenção do padrão.

Em testes preliminares, foi possível obter um padrão com pureza cromatográfica superior a 99%, porém, a bixina utilizada no presente experimento apresentou uma pureza média de 97% ao ser extraída pela metodologia que empregou solução de acetato de etila. A utilização de solução alcoólica amoniacal proporcionou a obtenção de um padrão com aproximadamente 95% de pureza. As percentagens estão de acordo com os valores encontrados por Rios (2004) e Oliveira (2005), que necessitaram recorrer ao processo de recristalização sucessiva para obter pureza superior a 95%.

Na Figura 3.1 é possível verificar através da análise dos cromatogramas a degradação do padrão de bixina ao longo de 45 dias de armazenamento a  $-12^\circ\text{C}$  e  $23^\circ\text{C}$ . Em ambos os tratamentos ocorre a diminuição da área dos picos correspondentes à bixina ao longo do tempo. Também pode ser verificada a formação de outros compostos de degradação nas duas condições, porém com picos de tamanhos diferentes e menores para o padrão de bixina extraído segundo Oliveira (2005) submetido a  $-12^\circ\text{C}$ .

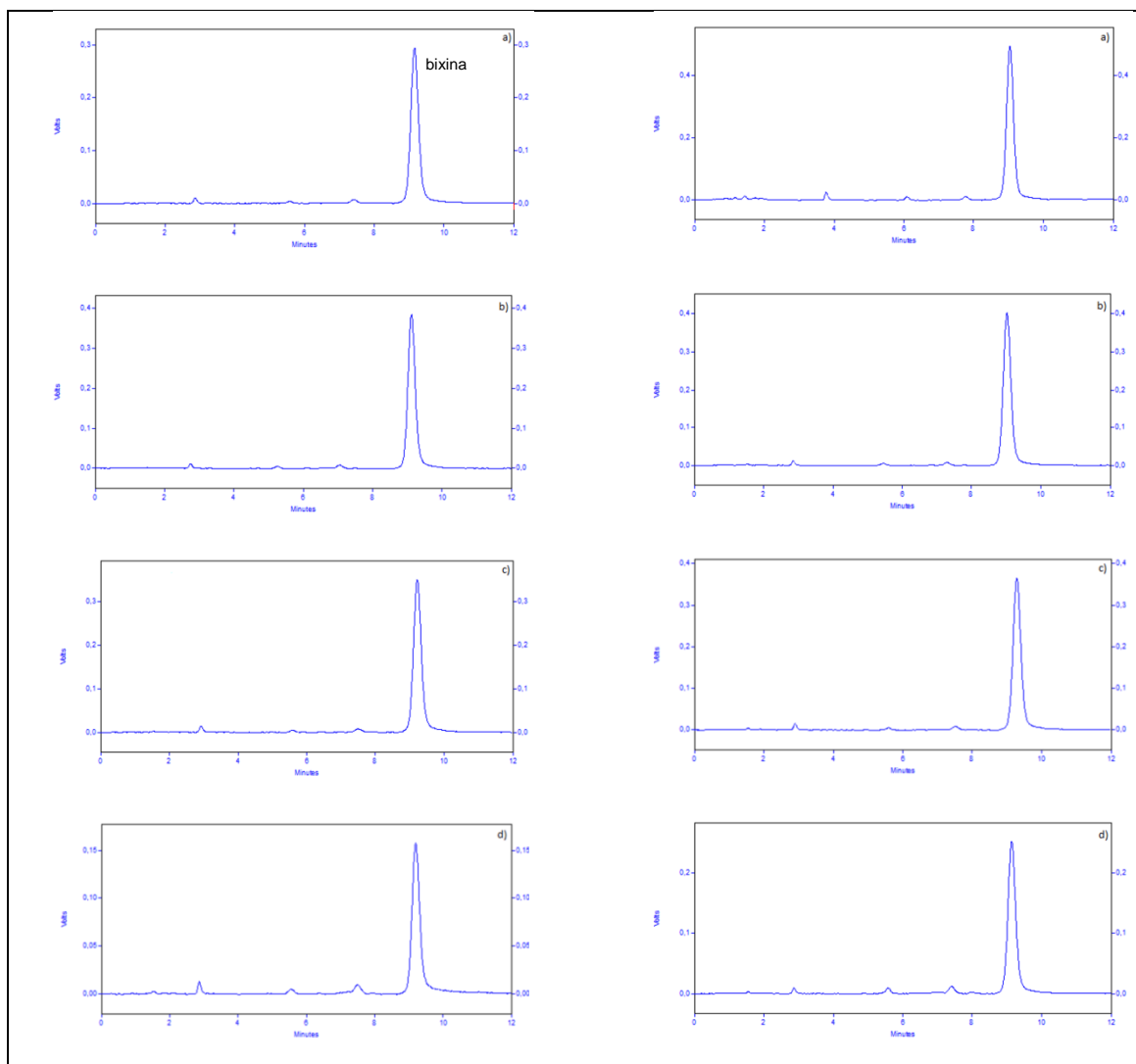


FIGURA 3.1 – CROMATOGRAMAS DA DEGRADAÇÃO DO PADRÃO CROMATOGRÁFICO DE BIXINA ARMAZENADO SOB ATMOSFERA AMBIENTE EM FRASCO SELADO A -12 °C (ESQUERDA) E 23 °C (DIREITA) POR 45 DIAS, OBTIDOS DE ACORDO COM AS CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS ESPECIFICADAS NO TEXTO.

NOTA: a) Tempo zero; b) 15 dias; c) 30 dias; d) 45 dias.

A comparação da estabilidade do padrão de bixina obtido conforme Oliveira (2005) imerso em etanol frente ao padrão armazenado sob atmosfera ambiente em frascos selados é apresentada na Figura 3.2. Foi verificado que praticamente não ocorreu degradação do pigmento das amostras imersas em etanol em até 45 dias de armazenamento a -12 °C. Para as amostras submetidas a 23 °C, a bixina sob etanol se manteve até aos 30 dias, porém atingindo perdas em torno de 35% aos 45 dias de armazenagem.

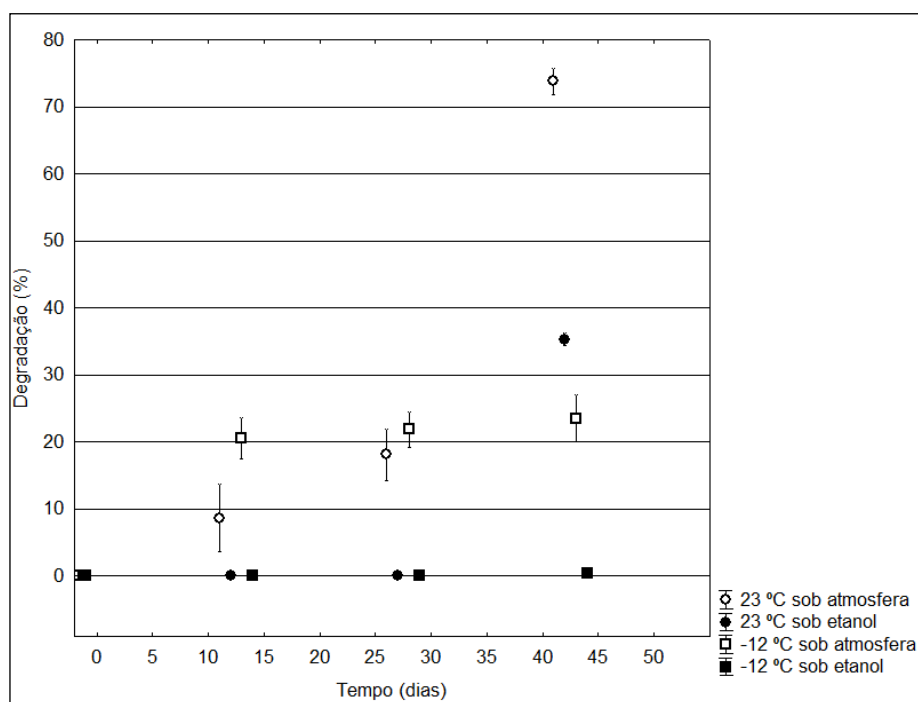


FIGURA 3.2 – DEGRADAÇÃO DO PADRÃO CROMATOGRÁFICO DE BIXINA ARMAZENADO EM DIFERENTES CONDIÇÕES E TEMPERATURAS.

Oliveira (2005) conduziu um experimento que comparou a estabilidade do padrão cromatográfico de bixina na forma de cristais armazenado sob diferentes condições (atmosfera de gás liquefeito de petróleo, vácuo, nitrogênio gasoso e imersão em alguns solventes). O autor verificou que a imersão das amostras em solventes foi mais efetiva na manutenção da concentração dos padrões. Entre os solventes avaliados, as amostras imersas em etanol não apresentaram degradação ao longo de 90 dias armazenadas -18 °C. O autor atribui a estabilidade da bixina à baixa solubilidade em etanol.

A partir da análise da superfície de resposta apresentada na Figura 3.3, foi verificado que a temperatura de armazenamento não exerceu influência significativa na concentração do pigmento obtido pela extração com acetato de etila. Os resultados também mostram que o padrão mantém-se estável até aproximadamente 50 dias de estocagem.

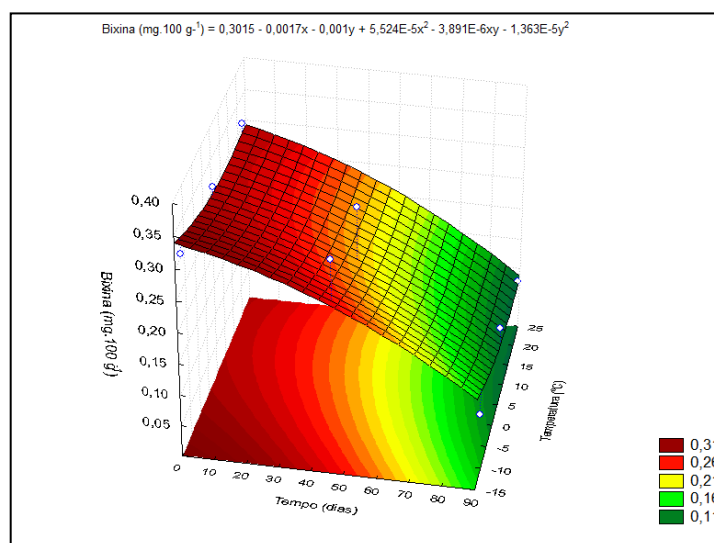


FIGURA 3.3 – SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA ARMAZENAMENTO DE PADRÃO CROMATOGRÁFICO DE BIXINA OBTIDO POR EXTRAÇÃO COM ACETATO DE ETILA EM FUNÇÃO DO TEMPO E DA TEMPERATURA.

O modelo quadrático ajustado apresentou coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,7821. Na Tabela 3.1 são apresentados os cálculos de análise de variância (ANOVA) e verifica-se que o valor calculado de F para o fator tempo foi superior ao tabelado de  $F_{(1,6)} = 5,99$  ao nível de 95% de confiança, indicando a influência significativa no armazenamento do padrão de bixina. Além da temperatura, também não houve influência significativa da interação tempo x temperatura na concentração de bixina.

TABELA 3.2 – ANÁLISE DE VARÂNCIA PARA EFEITO DO TEMPO E DA TEMPERATURA NO ARMAZENAMENTO DE PADRÃO CROMATOGRÁFICO DE BIXINA OBTIDO POR EXTRAÇÃO COM ACETATO DE ETILA.

FATOR	SOMA DOS QUADRADOS	GRAUS DE LIBERDADE	QUADRADO MÉDIO	VALOR F	VALOR p
Tempo (dias)	0,059	1	0,059	19,768	0,004
Tempo x Tempo	0,002	1	0,002	0,677	0,441
Temperatura (°C)	0,003	1	0,003	1,022	0,350
Temperatura x Temperatura	0,001	1	0,001	0,254	0,632
Tempo x Temperatura	0,000	1	0,000	0,012	0,914
Erro puro	0,018	6	0,003		
Soma de quadrados total	0,082	11			

Na Figura 3.4 é mostrada a superfície de resposta com a influência do tempo e da temperatura no armazenamento do padrão de bixina obtido por extração com solução alcoólica amoniacal. As condições ótimas para estocagem do pigmento estiveram compreendidas na faixa de temperatura de -12 °C a aproximadamente 5 °C até 45 dias. Apesar de não significativa, a temperatura de armazenamento



representou influência na degradação do padrão a partir de 15 °C nos primeiros dias de estocagem.

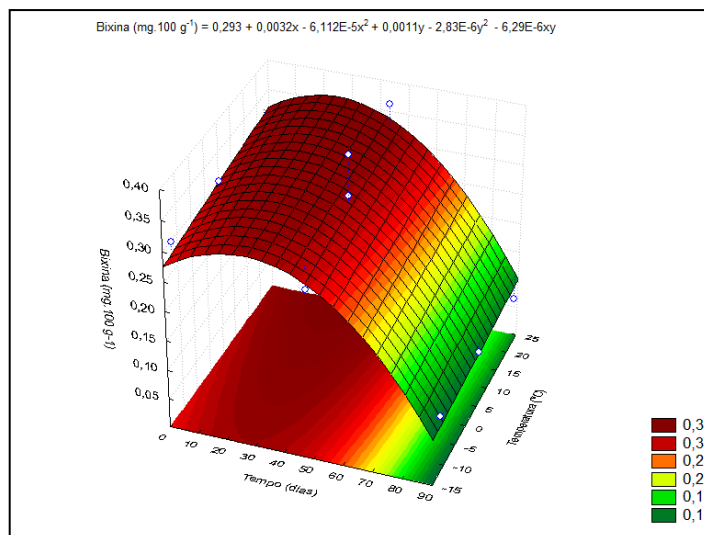


FIGURA 3.4 – SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA ARMAZENAMENTO DE PADRÃO CROMATOGRÁFICO DE BIXINA OBTIDO POR EXTRAÇÃO COM SOLUÇÃO ALCOÓLICA AMONICAL EM FUNÇÃO DO TEMPO E DA TEMPERATURA.

O modelo quadrático ajustado apresentou coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,91031. Na Tabela 3.2 são apresentados os cálculos de análise de variância (ANOVA) e verifica-se que os valores de F calculados para o fator tempo (linear e quadrático) foram superiores ao tabelado de  $F_{(1,6)} = 5,99$  ao nível de 95% de confiança, indicando a influência significativa no armazenamento do padrão de bixina. Assim como para o armazenamento do padrão obtido por extração com acetato de etila, também não foi verificada influência significativa da interação tempo x temperatura na concentração de bixina.

TABELA 3.3 – ANÁLISE DE VARÂNCIA PARA EFEITO DO TEMPO E DA TEMPERATURA NO ARMAZENAMENTO DE PADRÃO CROMATOGRÁFICO DE BIXINA OBTIDO POR EXTRAÇÃO COM SOLUÇÃO ALCOÓLICA AMONICAL

FATOR	SOMA DOS QUADRADOS	GRAUS DE LIBERDADE	QUADRADO MÉDIO	VALOR F	VALOR p
Tempo (dias)	0,065	1	0,065	35,290	0,001
Tempo x Tempo	0,040	1	0,040	21,956	0,003
Temperatura (°C)	0,001	1	0,001	0,739	0,422
Temperatura x Temperatura	0,000	1	0,000	0,001	0,974
Tempo x Temperatura	0,000	1	0,000	0,052	0,825
Erro puro	0,011	6	0,011		
Soma de quadrados total	0,124	11			

As imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) do padrão

obtido por extração com acetato de etila são apresentadas na Figura 3.5.

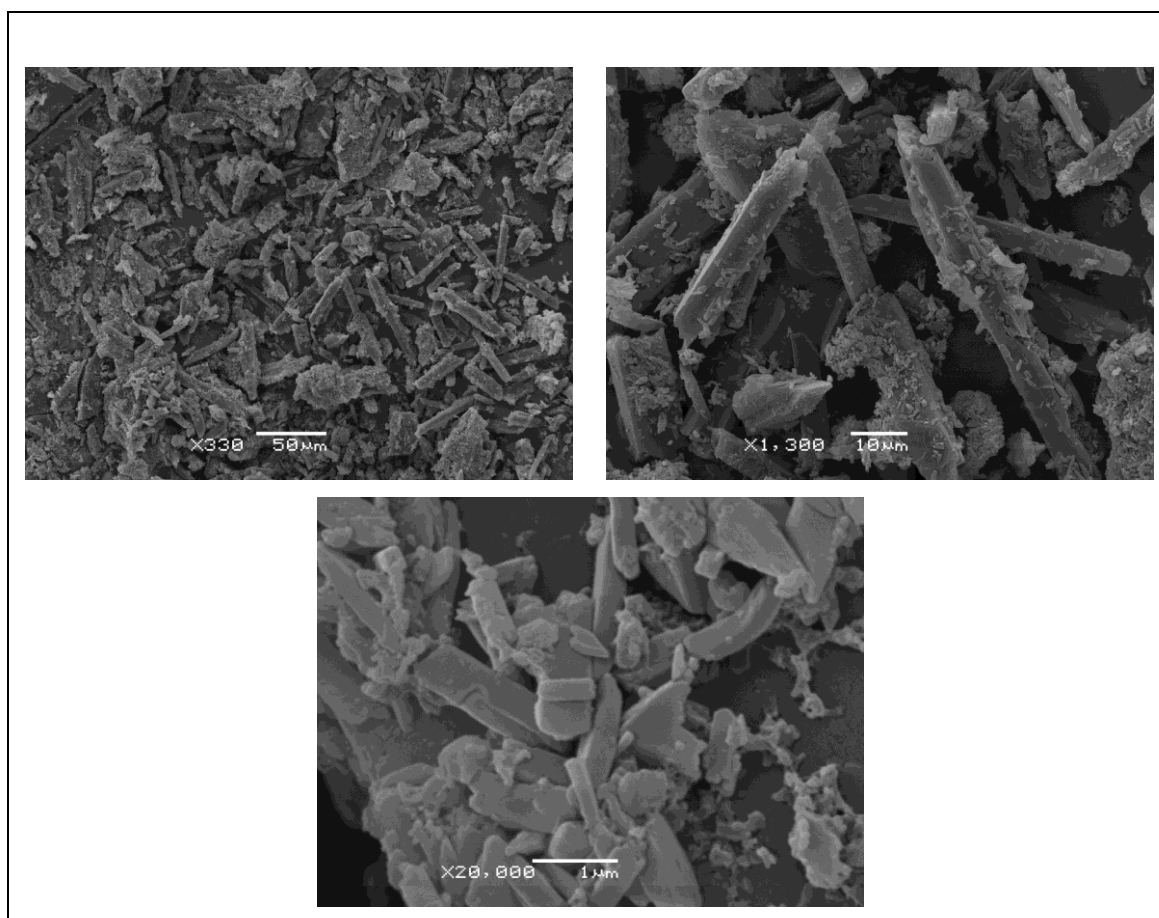


FIGURA 3.5 – MICROGRAFIAS DE PADRÃO CROMATOGRÁFICO DE BIXINA EXTRAÍDO PELA METODOLOGIA DE ACETATO DE ETILA EM AUMENTOS DE 330, 1.300 E 20.000 VEZES

As partículas apresentaram uma distribuição irregular de tamanhos, predominando aquelas com formato prismático e alongado, com dimensões de aproximadamente  $50 \times 5 \mu\text{m}$ . As superfícies lisas tiveram ainda algumas partículas menores, com cerca de  $1 \mu\text{m}$  de comprimento, aderidas à superfície.

Rios (2004), utilizando a metodologia de extração com acetato de etila, obteve partículas com formato semelhante, porém com dimensões menores. O autor explica que as diferenças morfológicas para o mesmo carotenoide podem acontecer devido ao conjunto de solventes utilizados na extração. Outro fator importante é a temperatura e o tempo de resfriamento utilizados na etapa de cristalização.

Na Figura 3.6 são apresentadas as micrografias obtidas para o padrão de bixina extraído com solução alcoólica amoniacal. As partículas apresentaram aspecto granular, com tamanho inferior a  $1 \mu\text{m}$ , agrupadas em esferas de

aproximadamente 20  $\mu\text{m}$  de diâmetro. Na figura ainda podem ser visualizadas as imagens obtidas para o padrão armazenado sob congelamento ( $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e temperatura ambiente ( $23\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Ao final de 90 dias. Não foram identificadas alterações na morfologia das partículas do padrão de bixina com o tempo e com a temperatura de armazenamento.

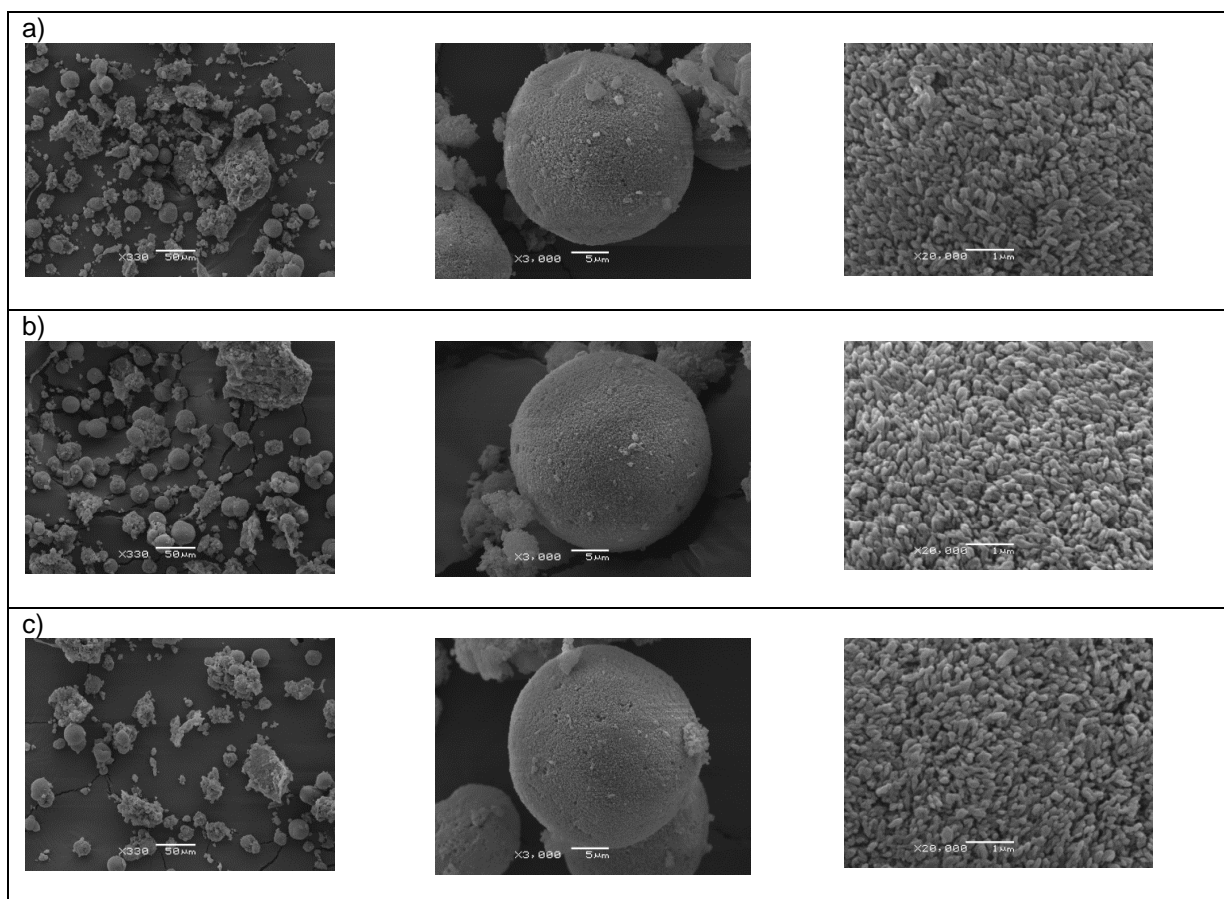


FIGURA 3.6 – MICROGRAFIAS DE PADRÃO CROMATOGRÁFICO DE BIXINA EXTRAÍDO COM SOLUÇÃO ALCOÓLICA AMONÍACAL (a) ARMAZENADO A  $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$  (b) e  $23\text{ }^{\circ}\text{C}$  (c).

#### 4 CONCLUSÃO

As metodologias empregadas no presente estudo possibilitaram a obtenção de padrões cromatográficos de bixina com pureza superior a 95%, sem que houvesse necessidade de recristalização. As diferentes características morfológicas das partículas podem ser atribuídas aos diferentes solventes e temperaturas de extração utilizados.

A imersão dos padrões em etanol mostrou-se efetiva na manutenção das características originais do padrão sob baixas temperaturas quando comparada com as amostras que não sofreram o mesmo tratamento.

As condições recomendadas para estocagem do padrão de bixina imerso em etanol corresponderam a temperaturas inferiores a 5 °C e 45 dias.

## REFERÊNCIAS

CARVALHO, P. R. N.; SARANTOPOULOS, C. I. G. L.; SHIROSE, I.; SILVA, M. G. Estudo de vida-de-prateleira do corante (bixina) extraído do urucum (*Bixa orellana*, L.). **Coletânea do ITAL**, n. 23, p. 98-104, 1993.

GOUVEIA, J. P. G.; MOURA, R. S. F.; MEDEIROS, B. G. S. Determinação de algumas propriedades físicas das sementes de urucum. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, v. 4, n. 1, 2000.

IAL – INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v. 1, São Paulo: O Instituto, 2005.

MERCADANTE, A. Z.; PFANDER, H. Carotenoids from annatto: A review. **Agricultural and Food Chemistry**, v. 2, p. 79-91, 1998.

NAJAR, S. V.; BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. Effects of light, air, anti-oxidants and pro-oxidants on annatto extracts (*Bixa orellana*). **Food Chemistry**, v. 29, n. 4, 1988.

OLIVEIRA, J. S. **Caracterização, extração e purificação por cromatografia de compostos de urucum (*Bixa orellana* L.)**. 192 p. Tese (Doutorado), Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2005.

PIMENTEL, F. A.; STRINGHETA, P. C. Influência da luz e do oxigênio sobre a estabilidade do norbixinato de potássio em presença de maltodextrina. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, n. 3, p. 21-26, 1999.

RIOS, A. O. **Carotenóides de urucum: desenvolvimento de método analítico e avaliação da estabilidade em sistemas-modelo**. 147 p. Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas – SP, 2004.

RIOS, A. O.; MERCADANTE, A. Z. Otimização das condições para obtenção de padrão de bixina e das etapas de extração e saponificação para quantificação de bixina em “snacks” extrusados por CLAE. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 15, n. 3, p. 203-213, 2004.

SCOTTER, M. J.; THORPE, S. A.; REYNOLDS, S. L.; WILSON, L. A. STRUTT, P. R.

Characterization of the principal colouring components of annatto using high performance liquid chromatography with photodiode-array detection. **Food Additives and Contaminants**, v. 11, p. 301-315, 1994.

SILVA, M. G.; CARVALHO, P. R. N.; TAVARES, P. E. R.; CARVALHO, T. C. Validação de uma metodologia para análise de carotenóides totais expressos como bixina e/ou sal de norbixina em sementes de urucum (*Bixa orellana* L.) I **Reunião Nacional da Cadeia Produtiva do Urucum**. Campinas: ITAL, 2007.

STRINGHETA P. C., SILVA P. I. **Pigmentos de urucum: extração, reações químicas, usos e aplicações**, Suprema: Viçosa, Minas Gerais, 2008.

TOCCHINI, L.; MERCADANTE, A. Z. Extração e determinação, por CLAE, de bixina e norbixina em coloríficos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, p. 310-313, 2001.

## **CAPÍTULO 4**

### **CARACTERIZAÇÃO DO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM**

## RESUMO

Alguns resíduos gerados na industrialização ainda possuem potencial de uso e por representarem fontes de nutrientes podem ser usados em alimentação animal ou humana. A semente de urucum é usada como matéria-prima principalmente na produção do corante natural bixina e a industrialização gera em média 96% de resíduos, que depois de secos e triturados ainda são adequados na reutilização. O objetivo deste trabalho foi caracterizar o farelo de semente de urucum (FSU) com relação às propriedades físicas, químicas e funcionais. Os resultados mostraram que a maior parte da fração retida na separação granulométrica corresponde a partículas de diâmetro médio entre 0,91 e 1,4 mm. As partículas de menor diâmetro apresentaram coloração mais viva que as demais, com maiores valores de  $C^*$  e mais próximas da cor vermelha. O FSU apresentou teores consideráveis de potássio ( $2285,12 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1} \pm 23,02$ ), fósforo ( $336,85 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1} \pm 4,71$ ) e magnésio ( $304,79 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1} \pm 1,22$ ) e as amostras caracterizadas pelo menor diâmetro apresentaram maiores teores de bixina ( $340,18 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1} \pm 21,88$ ), além de representarem a menor porcentagem de massa retida na separação granulométrica. A capacidade média de retenção de água verificada foi de  $3,235 \text{ g água.g}^{-1}$  de amostra  $\pm 0,40$ , a capacidade de retenção de óleo (CRO) foi de  $1,904 \text{ g óleo.g}^{-1}$  de amostra  $\pm 0,04$  e a capacidade de absorção de molécula orgânica (CAMO) foi de  $1,232 \text{ g óleo.g}^{-1}$  de amostra  $\pm 0,12$ . Na análise estatística multivariada, o dendrograma mostrou a ocorrência de dois grandes agrupamentos entre o FSU de acordo com o diâmetro de partícula (maior e menor). A análise de componentes principais permitiu verificar que os dois primeiros componentes, PC1 e PC2, armazenaram 78% da variabilidade dos dados e que houve correlação positiva entre o teor de bixina e os parâmetros de cor. As diferenças encontradas evidenciam uma necessidade de maior padronização do produto, de forma a garantir um maior valor agregado.

**Palavras-chave:** *Bixa orellana*, subproduto, bixina, parâmetros colorimétricos, tamanho de partícula.



**ABSTRACT**

A part of waste generated after industrialization remains with contents of nutrient sources which can be used in animal feed or human food. The annatto seed is used primarily as raw material in the bixin production and its industrialization generates about 96% of waste, which after dried and milled still appropriate for reuse. The aim of this study was to characterize the annatto seed by-product physically, chemically and functionally. The results showed that most of granulometric fraction retained in the separation corresponded to particles with a medium diameter between 0.91 and 1.34 mm. The smaller particles showed more vivid colors than others, with higher values of  $C^*$  and the  $a^*$  closer to the red color. The annatto seed by-product showed considerable levels of potassium ( $2285,12 \text{ mg.100 g}^{-1} \pm 23,02$ ), phosphorous ( $336,85 \text{ mg.100 g}^{-1} \pm 4,71$ ) and magnesium ( $304,79 \text{ mg.100 g}^{-1} \pm 1,22$ ) and was characterized by the smaller diameter samples presenting higher levels of bixin ( $340,18 \text{ mg.100 g}^{-1} \pm 21,88$ ). The water retention capacity was  $3.235 \text{ g of water.g of sample}^{-1} \pm 0.40$ , oil capacity retention was  $1.904 \text{ g of oil.g of sample}^{-1} \pm 0.04$  and the organic molecule absorption capacity was  $1.232 \text{ g of oil.g of sample}^{-1} \pm 0.12$ . After multivariate analysis, the cluster analysis showed the presence of two major groups between the annatto seed by-product according to the particle diameter. The principal component analysis showed that the first two components PC1 and PC2, stored 78% of data variability and that there was a positive correlation between bixin and color parameters. The parameters evaluated were useful to characterize the annatto seed by-product and chemical composition analysis demonstrated the potential use of bran as a raw material.

**Key-words:** *Bixa orellana*, by-product, bixin, colorimetric features, particle size.

## 1 INTRODUÇÃO

Parte dos resíduos gerados pela industrialização de alimentos é descartada, causando problemas econômicos e ambientais. Alguns estudos destacam o potencial de uso destes subprodutos, que representam fontes de proteínas, fibras, lipídios e minerais, podendo ser usados tanto em ração animal como em produtos para alimentação humana (FONTANARI *et al.*, 2007).

O urucum (*Bixa orellana*, L.), um arbusto tropical, cujas sementes são recobertas pelo carotenoide bixina, é usado como corante natural pelas indústrias de alimentos (Carvalho, 1999). De acordo com Stringheta e Silva (2008), os métodos comerciais para extração de bixina das sementes consistem na imersão em soluções alcalinas, na extração com óleo vegetal e ainda através do uso de solventes orgânicos.

A produção industrial de bixina gera de 94% a 98% de resíduos (Silva *et al.*, 2006). Depois que as sementes são secas e trituradas, o farelo da semente de urucum (FSU) pode ser reutilizado como adubo em plantações ou como suplemento de ração animal. Paschoini (2000), com o objetivo de aproveitar o resíduo das sementes de urucum, secou e triturou o material, obtendo um farelo com características adequadas na utilização em alimentação animal. Bressani *et al.* (1983) relataram elevados níveis de proteínas, fibras e fósforo e Demczuk Jr. *et al.* (2010) encontraram teores significativos do carotenoide bixina no FSU.

Os carotenoides do urucum são importantes devido a sua capacidade antioxidante (KIOKIAS; GORDON, 2003). Lima *et al.* (2006) relataram a presença de substâncias com atividade anti-inflamatória nas sementes de urucum. Um grande número de estudos foram conduzidos com o objetivo de descrever a influência dos carotenoides na dieta animal, como Carvalho *et al.* (2006), que estudaram a pigmentação da gema de ovos através da adição de fontes marinhas de carotenoides na dieta de galinhas poedeiras. Harder *et al.* (2010) relataram que o uso do urucum aumentou a pigmentação em cortes de peito de frango. Utiyama (2001) e Kill *et al.* (2005) estudaram o uso do FSU como um ingrediente alternativo na ração de suínos em crescimento. Silva, Albino e Godói (2000), ao utilizarem extrato de urucum na dieta de galinhas poedeiras, conseguiram um aumento da pigmentação da gema de ovo e sugeriram uma remuneração ao produtor de acordo

com a coloração da gema.

Além das propriedades benéficas e de qualidade, a forma de determinados alimentos é considerada um fator importante para determinar sua adequação a processos ou no valor comercial. A classificação consiste na separação de sólidos em duas ou mais frações com base na diferença de tamanho. A operação é particularmente importante quando o alimento deve passar por um processo térmico, já que a transferência de calor é em parte determinada pelo tamanho das peças individuais e as variações no tamanho podem influenciar tais tratamentos. A redução do tamanho não tem nenhum efeito preservativo, sendo apenas utilizada para melhorar a qualidade digestiva ou a adequabilidade do alimento a processamentos posteriores. No caso de alimentos secos, como os grãos, que possuem uma atividade de água suficientemente baixa, o armazenamento por vários meses após a moagem ocorre sem alterações superficiais nos valores nutricionais (FELLOWS, 2006).

Já o conhecimento das propriedades funcionais, como retenção e absorção de água, capacidade de retenção de molécula orgânica, bem como as relacionadas à afinidade por componentes lipídicos são úteis para a indústria de alimentos. Desta forma, materiais como as fibras são adicionados com o objetivo de melhorar as propriedades tecnológicas, mas o preparo da matéria-prima e os diferentes processos de extração e moagem podem afetar diferentemente a estrutura celular e as propriedades físico-químicas, funcionais e fisiológicas dos farelos (CAPITANI *et al.*, 2012).

Mesmo existindo um potencial de utilização do FSU, ainda são escassos os estudos para um melhor entendimento de seu comportamento em diferentes tipos de sistemas alimentares. Assim, visando aproveitar resíduos remanescentes, gerados pelo processamento industrial de urucum, o objetivo deste trabalho foi proceder a caracterização das propriedades físicas, químicas e funcionais (capacidade de retenção de água e capacidade de retenção de molécula orgânica), com a finalidade de avaliar o potencial de utilização do farelo de semente de urucum.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 FARELO DE SEMENTE DE URUCUM

O FSU foi fornecido pela empresa Paschoini Agro (São Sebastião do Paraíso, Minas Gerais). Depois de recebido, o material foi armazenado a -18 °C até o momento da utilização, para prevenir perdas nos teores de bixina.

### 2.2 CARACTERIZAÇÃO GRANULOMÉTRICA

As amostras foram submetidas à determinação da granulometria em um conjunto vibratório de peneiras (marca Bertel, série 12-03), equipado com peneiras (8, 10, 14, 16, 20, 15, 30, 35, 40, 50, 80, 100, 140 e 170 ASTM) por 20 minutos. A massa de material retido em cada peneira foi determinada e a porcentagem de cada fração foi calculada.

### 2.3 CÁLCULO DO DIÂMETRO MÉDIO DAS PARTÍCULAS

O diâmetro médio das partículas foi calculado para cada fração, de acordo com Foust *et al.* (1982), levando em conta que o material tem um diâmetro igual à média da abertura da peneira pela qual a partícula passa e da peneira em que a partícula fica retida (Equação 4.1).

$$D_p = \frac{(D_p)_2 + (D_p)_1}{2} \text{ (Eq. 4.1)}$$

Onde:

$D_p$  = diâmetro médio da partícula (mm)

$(D_p)_2$  = abertura da peneira em que as partículas são retidas (mm)

$(D_p)_1$  = abertura da peneira pela qual as partículas passam (mm).

## 2.4 PROPRIEDADES FUNCIONAIS

### 2.4.1 Capacidade de retenção de água (CRA) e capacidade de retenção de óleo (CRO)

Conforme método de Chau, Cheung e Wong (1997), 1 g (base seca) de amostra foi pesada e homogeneizada em 10 mL de água destilada ou óleo de canola comercial (densidade  $0,920 \text{ g.cm}^{-3}$ ). As suspensões foram centrifugadas a 2200 rpm por 30 min (Excelsa II, 206BL, 10 cm, Fanem, Brasil) e o sobrenadante foi medido. A CRA foi expressa em massa de água retida por massa de amostra e a CRO como massa de óleo retido por massa de amostra.

### 2.4.2 Capacidade de absorção de molécula orgânica (CAMO)

De acordo com Zambrano *et al.* (2001), 3 g (base seca) de amostra foi colocada em quantidade excessiva de óleo de canola (25 mL) por 24 h a temperatura ambiente e então centrifugada a 2000 rpm por 15 min (Excelsa II, 206BL, 10 cm, Fanem, Brasil). O resultado foi expresso como componente hidrofóbico absorvido e calculado em termos de ganho de massa da amostra ( $\text{g óleo.g amostra}^{-1}$ ).

## 2.5 COR INSTRUMENTAL

Os parâmetros de cor das amostras de cada fração foram medidos com um espectrofotômetro Hunter Lab Mini Scan XE Plus (Reston, VA, EUA). O instrumento, equipado com iluminante D65/10°, foi calibrado utilizando uma placa preta e uma cerâmica padrão branca ( $X = 78,9$ ,  $Y = 83,9$ ,  $Z = 88,9$ ). O eixo  $L^*$  representa a luminosidade, de 0 (preto) a 100 (branco). Os parâmetros  $a^*$  e  $b^*$ , que expressam respectivamente, o eixo verde/vermelho ( $-a^*/a^*$ ) e o eixo azul/amarelo ( $-b^*/b^*$ ), foram utilizados para calcular os parâmetros da escala  $L^*C^*h^*$  (Equações 4.2 e 4.3). A saturação ( $C^*$ ) corresponde ao grau de pureza de uma cor em relação à mistura com

o cinza e o ângulo de tom ( $h^*$ ) representa as diferentes cores existentes (CIE, 1986; HUNTERLAB, 2000).

$$C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2} \quad (\text{Eq. 4.2})$$

$$h^* = \arctan(b^*/a^*) \quad (\text{Eq. 4.3})$$

## 2.6 PROPRIEDADES QUÍMICAS

### 2.6.1 Teor de umidade

O conteúdo de umidade do FSU (g de água.100 g<sup>-1</sup> de sólido seco) foi determinado por secagem durante 24 h em estufa a 105 °C (AOAC, 2010).

### 2.6.2 Teor de cinzas e minerais

As cinzas foram determinadas após incineração das amostras em mufla a 550 °C (AOAC, 2010). As concentrações de minerais (Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, Na, Zn) foram avaliadas pela técnica de Espectroscopia de Plasma Induzido (ICP-OES) (AOAC, 2010).

### 2.6.3 Lipídios

O teor de lipídios totais foi determinado pelo método de Soxhlet, usando como solvente éter de petróleo a 40 °C (AOAC, 2010).

### 2.6.4 Proteínas

O conteúdo de proteínas foi determinado pelo procedimento de Kjeldahl usando 6,25 como fator de conversão de nitrogênio para proteína (AOAC, 2010).

### 2.6.5 Fibras

O método enzimático-gravimétrico foi usado para determinar o teor de fibra dietética, de acordo com AOAC (2010).

### 2.6.6 Carboidratos

O conteúdo total de carboidratos foi determinado subtraindo os valores de umidade, proteínas, lipídios, fibra e cinzas (%) de cem (100) (WATT; MERRILL, 1999).

### 2.6.7 Valor energético

A determinação do valor energético (kcal) foi realizada através da soma dos resultados da multiplicação dos fatores de conversão (9,0) para lipídios e (4,0) para carboidratos e proteínas (BRASIL, 2003).

### 2.6.8 Teores de bixina

A extração da bixina do FSU foi conduzida de acordo com o procedimento descrito por Tocchini e Mercadante (2001). As amostras de cada fração, em triplicata, foram previamente filtradas em membranas de PTFE com 0,22  $\mu\text{m}$  de poro antes das análises cromatográficas.

Foi utilizado um cromatógrafo Shimadzu controlado pelo sistema Class-VP e equipado com um injetor manual Rheodyne. As demais condições cromatográficas foram: volume de injeção 20  $\mu\text{L}$ , bomba LC-10AD, detector SPD-10A UV-VIS, comprimento de onda 470 nm e uma coluna Synergi (3,9 mm x 150 mm, 4  $\mu\text{m}$ ), operando a 1 mL min<sup>-1</sup>.

Os solventes de grau cromatográfico, acetonitrila:ácido acético 2% (65:35), foram previamente filtrados em membrana de 0,45  $\mu\text{m}$  de poro (TOCCHINI; MERCADANTE, 2001).

A quantificação do teor de bixina foi realizada por padronização externa através de curva analítica construída com cinco diferentes concentrações. As

concentrações selecionadas ( $5,4 \mu\text{g.mL}^{-1}$  a  $271,4 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ), foram definidas com base no teor esperado nas amostras. O padrão de bixina (99,8% de pureza) usado nas análises foi obtido conforme método proposto por Rios, Mercadante e Borsarelli (2007).

## 2.7 ANÁLISE MULTIVARIADA

A Análise de Componentes Principais (PCA) e a Análise de Cluster (CA) foram conduzidas através da ferramenta computacional Statistica 7.0.

Na análise de componentes principais, a variância armazenada em cada componente principal é expressa pelos autovalores da matriz padronizada. O maior autovalor é associado ao primeiro componente principal, o segundo maior autovalor é associado ao segundo componente principal e assim sucessivamente. Desta forma, os primeiros componentes principais explicam, em sua maioria, grande parte da variância das variáveis originais (MARTEL *et al.*, 2003).

O dendrograma foi obtido utilizando como coeficiente de semelhança entre pares de locais e a distância Euclidiana como coeficiente de similaridade. Segundo as características consideradas, quanto menor a distância entre dois locais, mais similares eles são (MARTEL *et al.*, 2003).



### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 DIÂMETRO MÉDIO DAS PARTÍCULAS

Na Tabela 4.1 são apresentados os resultados da análise granulométrica do FSU. A maior parte da fração retida corresponde a 49,09% das partículas totais com diâmetro médio variando entre 0,91 e 1,4 mm.

TABELA 4.1 – DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DE PARTÍCULAS NO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM

DIÂMETRO MÉDIO DA PARTÍCULA (mm)	FRAÇÃO RETIDA (%)
1,98	0,05
1,40	20,09
1,08	8,43
0,91	20,57
0,75	9,49
0,60	8,41
0,48	9,52
0,44	6,23
0,32	3,31
0,21	9,74
0,16	2,83
0,12	1,08
0,10	0,26

Não foram encontradas referências às dimensões do FSU. No entanto, as sementes de urucum inteiras utilizadas no trabalho de Borem (1997) possuíam um diâmetro médio de 5,5 mm e Cunha (2008) encontrou o valor de 3,5 mm para o diâmetro de uma esfera com volume equivalente ao da semente.

#### 3.2. PARÂMETROS COLORIMÉTRICOS

Na Tabela 4.2 são apresentados os parâmetros colorimétricos do farelo de semente de urucum, medidos de acordo com os diferentes diâmetros de partícula.

TABELA 4.2 – PARÂMETROS COLORIMÉTRICOS DO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM, DE ACORDO COM DIFERENTES DIÂMETROS DE PARTÍCULA

DIÂMETRO MÉDIO DA PARTÍCULA (mm)	L*	a*	b*	C*	h*
1,98	43,04	12,26	10,23	15,97	39,83
1,40	43,72	15,57	14,60	21,34	41,14
1,08	44,62	15,70	14,30	21,24	42,30
0,91	44,02	14,96	13,13	19,90	41,25
0,75	43,15	17,36	16,21	23,75	43,04
0,60	45,00	15,36	14,01	20,79	42,36
0,48	43,72	14,38	12,17	18,84	40,23
0,44	43,64	14,52	13,24	19,65	42,33
0,32	44,57	14,31	13,14	19,43	42,55
0,21	42,08	17,97	15,68	23,85	41,09
0,16	44,41	19,94	17,60	26,60	41,41
0,12	46,14	19,59	16,18	25,41	39,52
0,10	40,35	25,13	22,86	33,97	42,27

As partículas de menor diâmetro foram caracterizadas por apresentarem uma coloração mais viva que as demais, com maiores valores de C\* e mais próximas da cor vermelha, com maiores valores de a\*.

### 3.3 PROPRIEDADES QUÍMICAS

Na Tabela 4.3 é apresentada a composição química do farelo de semente de urucum determinada no presente trabalho e comparada com alguns parâmetros avaliados por outros autores. Com relação aos macronutrientes, verificam-se valores próximos aos encontrados na literatura. Convém destacar os teores consideráveis de cálcio, fósforo, magnésio e potássio.

TABELA 4.3 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM NÃO SEPARADO POR GRANULOMETRIA DETERMINADA NO PRESENTE TRABALHO E POR DIFERENTES AUTORES

	VALORES POR 100 g						
	PRESENTE TRABALHO	WURTS E TORREBLANCA (1983)	QUEIROZ (2006)	KILL <i>et al.</i> (2005)	TONANI (1995)	BRESSANI (1983)	UTYIAMA (2001)
Umidade (g)	11,36 ± 0,04		10,23	11,98			13,29
Resíduo mineral (g)	5,65 ± 0,21	5,9	7,28		6,2		
Gordura total (g)	1,84 ± 0,04	1,1	6,09	1,77	1,5		
Proteínas (g)	11,94 ± 0,13	13,7	12,09	12,58	13,5	15,0	
Fibras alimentares (g)	42	14,4	12,96	11,07	15	16,0	
Carboidratos (g)	27,21	64,9			63,8		
Cálcio (mg)	194,03 ± 1,68	160	200				
Cobre (mg)	1,56 ± 0,11						
Ferro (mg)	5,97 ± 0,57	6,0					
Fósforo (mg)	336,85 ± 4,71	350	350	50			
Magnésio (mg)	304,79 ± 1,22						
Manganês (mg)	9,35 ± 0,30						
Potássio (mg)	2285,12 ± 23,02						
Sódio (mg)	7,87 ± 1,94						
Zinco (mg)	28,06 ± 0,57						
Valor calórico (kcal)	173,16						
Bixina (mg)	176,91 ± 68,59						

As variações entre os teores de fibras encontrados (Tabela 4.3) podem ser atribuídas às metodologias empregadas na sua determinação. Os valores ainda refletem no teor de carboidratos, calculado subtraindo de cem gramas o total dos valores de cada parâmetro da composição. O FSU apresenta o potássio como seu principal componente mineral, seguido do fósforo e magnésio. O baixo conteúdo de lipídios condiz com o processo de extração a que a semente é submetida. O FSU apresenta-se ainda como boa fonte de proteínas.

Carvalho *et al.* (1991), analisando a composição de sementes inteiras de urucum, sem sofrerem o processo de extração, encontraram teores de 9,8% de umidade, 4,6% cinzas, 10,8% proteínas, 4,8% lipídios e 70% de carboidratos totais.

### 3.4 TEORES DE BIXINA

Na Tabela 4.4 são mostrados os teores médios de bixina determinados para o FSU em cada fração após separação granulométrica. As amostras caracterizadas pelo menor diâmetro apresentaram maiores teores de pigmento, além de representarem a menor porcentagem de massa retida na separação granulométrica, conforme verificado anteriormente. Alguns valores de desvio padrão elevados podem ser atribuídos à variabilidade dos dados e à ordem de grandeza da variável estudada.

TABELA 4.4 – TEORES DE BIXINA (EM BASE SECA) DO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM, DE ACORDO COM DIFERENTES DIÂMETROS DE PARTÍCULA

DIÂMETRO MÉDIO DA PARTÍCULA (mm)	BIXINA (mg.100 g <sup>-1</sup> )
1,98	152,83 ± 64,76
1,40	97,86 ± 3,65
1,08	124,26 ± 69,73
0,91	143,06 ± 63,16
0,75	154,94 ± 19,19
0,60	94,53 ± 2,24
0,48	100,89 ± 39,43
0,44	147,43 ± 4,48
0,32	183,35 ± 64,27
0,21	208,62 ± 0,34
0,16	189,42 ± 35,72
0,12	309,90 ± 9,44
0,10	340,18 ± 21,88

Se for considerado que sementes inteiras de urucum podem apresentar o teor máximo de  $6 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$  de bixina (Carvalho; Hein, 1989), pode-se afirmar que o farelo analisado no presente estudo possui ainda cerca de 3%, em média, do pigmento presente na matéria-prima.

Um cromatograma típico da análise do teor de bixina por CLAE no farelo de semente de urucum é mostrado na Figura 4.1. Além do pico referente ao pigmento predominante, é verificado o pico correspondente ao tempo de retenção da norbixina, presente em menores quantidades no FSU.

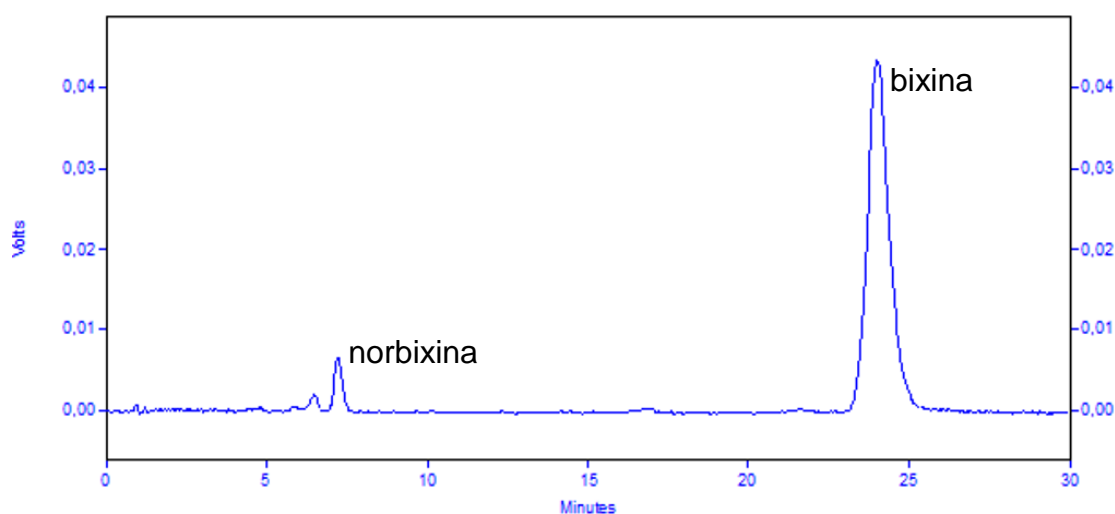


FIGURA 4.1 – CROMATOGRAMA DA ANÁLISE DO TEOR DE BIXINA EM FARELO DE SEMENTE DE URUCUM, OBTIDO DE ACORDO COM AS CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS ESPECIFICADAS NO TEXTO.

### 3.5 PROPRIEDADES FUNCIONAIS

A capacidade média de retenção de água verificada foi de  $3,235 \text{ g água} \cdot \text{g}^{-1}$  de amostra  $\pm 0,40$ . Wang *et al.* (2006), ao estudarem farinhas mistas extrusadas de trigo e soja, encontraram relação direta com o teor de umidade e a capacidade de absorção de água. Segundo os autores, a CRA não depende só da disponibilidade de grupos hidrofílicos, que ligam as moléculas de água, mas também da capacidade formadora de gel de macromoléculas.

A capacidade média de retenção de óleo (CRO) foi de  $1,904 \text{ g óleo} \cdot \text{g}^{-1}$  de amostra  $\pm 0,04$ . Os valores estão próximos aos relatados por Khattab e Arntfield (2009) que, ao estudarem farelos de linhaça e canola, obtiveram 2,01 e 2,09  $\text{g óleo} \cdot \text{g}^{-1}$  de amostra, respectivamente.

Dench, Rivas e Caygil (1981) sugerem que a retenção de óleo varia em função do número de grupos hidrofóbicos expostos na matriz alimentícia. Fontanari *et al.* (2007) explicam que diferentes valores de CRO observados, em comparação à CRA, revelam que essa propriedade pode resultar da interação das moléculas apolares que, ao expor mais áreas hidrofóbicas, acabam levando a uma maior retenção de óleo.

Foi definido um valor médio de  $1,232 \text{ g óleo.g amostra}^{-1} \pm 0,12$  de capacidade de absorção de molécula orgânica (CAMO) para o farelo de semente de urucum. Raghavendra *et al.* (2006) comentam que a afinidade por componentes lipídicos pode fornecer informações úteis na indústria de alimentos pela importância no cozimento ou na retenção de gordura em processos de fritura.

### 3.6 ANÁLISE MULTIVARIADA

Na Figura 4.2 é apresentado o dendrograma de dissimilaridade para agrupamento de diferentes diâmetros de FSU de acordo com o teor de bixina e com os parâmetros de cor, obtido pela matriz de distância Euclidiana média padronizada. A figura permite observar a presença, com exceção das partículas de 0,1 mm de diâmetro, de dois grandes agrupamentos, podendo ser classificados de acordo com o diâmetro de partícula (maior e menor).

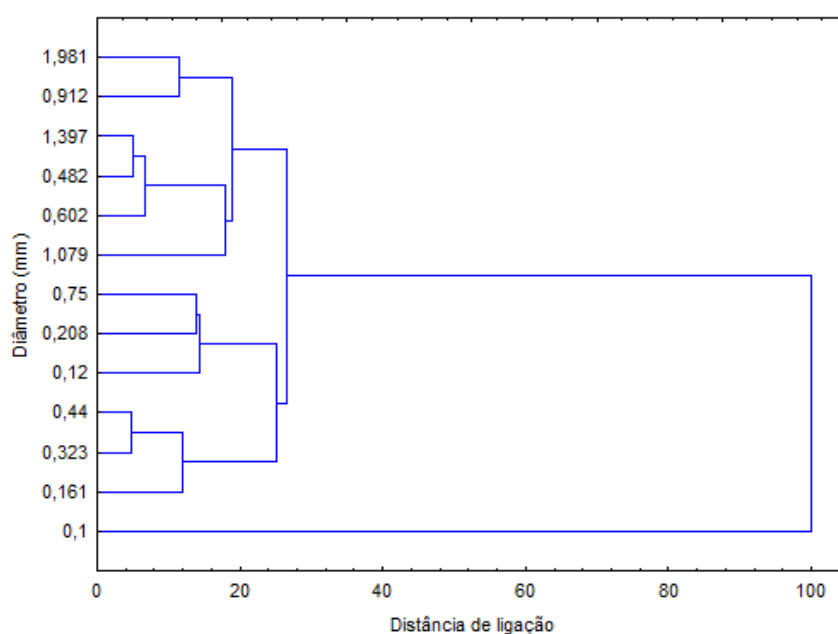


FIGURA 4.2 – DENDROGRAMA DE DISSIMILARIDADE PARA OS DIFERENTES DIÂMETROS DO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM

É verificado, a partir da análise de componentes principais (Figura 4.3), que os dois primeiros componentes, PC1 e PC2, armazenaram juntos 78% da variabilidade dos dados mostrados nas Tabelas 4.5, 4.6 e 4.7.

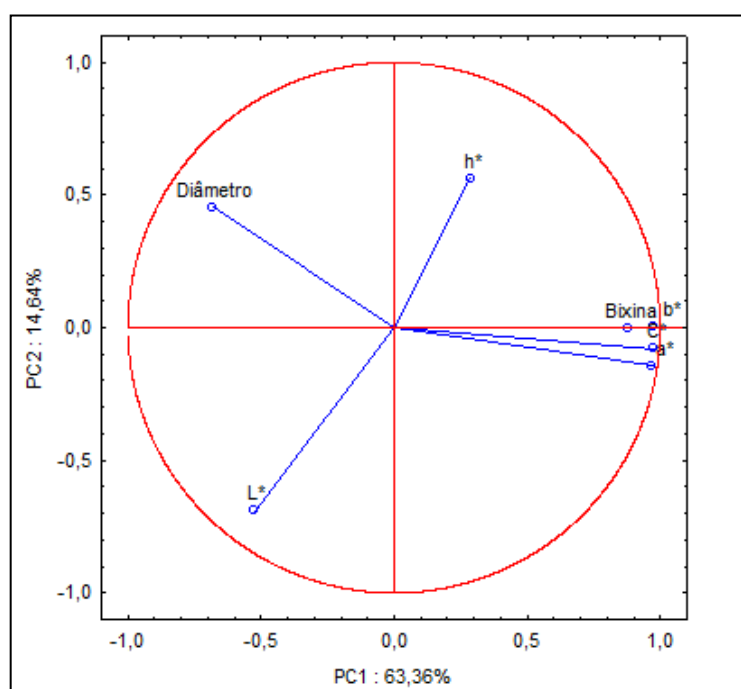


FIGURA 4.3 – ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS DO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM

Pode-se afirmar que houve correlação positiva entre o teor de bixina e os parâmetros de tonalidade vermelha  $a^*$  (81,67%), amarela  $b^*$  (78,33%) e saturação  $C^*$  (80,57%). Ainda cabe destacar a correlação entre tonalidade vermelha e amarela (98,03%) e tonalidade vermelha e saturação (99,6%).

TABELA 4.5 – CORRELAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS UTILIZADAS NA CARACTERIZAÇÃO DO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM

	<b>Diâmetro</b>	<b>Bixina</b>	<b>L*</b>	<b>a*</b>	<b>b*</b>	<b>C*</b>	<b>h*</b>
<b>Diâmetro</b>	1,000	-0,556	0,014	-0,628	-0,592	-0,615	-0,207
<b>Bixina</b>	-0,556	1,000	-0,524	0,816	0,783	0,805	0,122
<b>L*</b>	0,014	-0,524	1,000	-0,411	-0,460	-0,435	-0,206
<b>a*</b>	-0,628	0,816	-0,411	1,000	0,980	0,996	0,132
<b>b*</b>	-0,592	0,783	-0,460	0,980	1,000	0,993	0,301
<b>C*</b>	-0,615	0,805	-0,435	0,996	0,993	1,000	0,208
<b>h*</b>	-0,207	0,122	-0,206	0,132	0,301	0,208	1,000

Os diâmetros das partículas menores (0,1 mm) e maiores (1,98 mm) foram os

que mais influenciaram a diferença entre as amostras analisadas, representando mais de 74% da variabilidade (Tabela 4.6).

TABELA 4.6 – CONTRIBUIÇÕES DO DIÂMETRO DO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM, COM BASE NAS CORRELAÇÕES

DIÂMETRO MÉDIO DA PARTÍCULA (mm)	PC1	PC2
1,98	16,34	5,86
1,40	2,94	1,89
1,08	1,73	1,14
0,91	2,64	0,03
0,75	1,52	9,42
0,60	1,82	0,14
0,48	4,80	2,98
0,44	0,60	1,49
0,32	0,85	0,001
0,21	2,96	0,17
0,16	4,35	7,63
0,12	1,68	60,94
0,10	57,80	8,28

De acordo com a Tabela 4.7, pode-se notar que os parâmetros de cor  $a^*$ ,  $b^*$  e  $C^*$  foram responsáveis por aproximadamente 63% da variabilidade entre as frações de farelo analisadas.

TABELA 4.7 – CONTRIBUIÇÕES DAS VARIÁVEIS UTILIZADAS NA CARACTERIZAÇÃO DO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM, COM BASE NAS CORRELAÇÕES

	PC1	PC2
Diâmetro	0,104	0,200
Bixina	0,175	0,000
$L^*$	0,062	0,465
$a^*$	0,211	0,019
$b^*$	0,213	0,000
$C^*$	0,214	0,006
$h^*$	0,018	0,308



#### 4 CONCLUSÃO

Os níveis médios de bixina ( $172,86 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1} \pm 30,63$ ) e os consideráveis teores de potássio, fósforo e magnésio tornam o FSU uma fonte alternativa de nutrientes na suplementação de ração animal

As informações sobre as propriedades funcionais podem servir de base para desenvolvimento de novas tecnologias que utilizem o farelo, principalmente como matéria-prima na produção de ração animal.

As técnicas multivariadas permitiram afirmar que houve correlação positiva entre os teores de bixina e os parâmetros de cor analisados, e realizar a identificação de dois grupos de similaridade entre as frações granulométricas. As diferenças encontradas evidenciam uma necessidade de maior padronização do produto, de forma a garantir um maior valor agregado.

## REFERÊNCIAS

AOAC. **Official methods of analysis of AOAC international**, 18. ed. Gaithersburg, 2010.

BOREM, A. Sistemas reprodutivos das espécies cultivadas. In: **Melhoramento de Plantas**. Viçosa: UFV, 1997.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Resolução RDC n.º 360 de 23 de dezembro de 2003. Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 26 de dezembro de 2003.

BRESSANI, R.; PORTA-ESPAÑA DE BARNEÓN, F.; BRAHAM, J. E.; ELÍAS L. G.; GÓMEZ-BRENES, R. Chemical composition, amino acid content and nutritive value of the protein of the annatto seed (*Bixa orellana*, L.). **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, n. 33, p. 356-376, 1983.

CAPITANI, M. I.; SPOTORNO, V.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Physicochemical and functional characterization of by-products from chia (*Salvia hispanica* L.) seeds from Argentina. **LWT – Food Science and Technology**, n. 45, p. 94-102, 2012.

CARVALHO, P. R. N. Urucum: avanços tecnológicos e perspectivas. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 49, n. 1, 1999.

CARVALHO, P. R. N.; CARVALHO, C. R. L.; MANTOVANI, D. M. B. Estudo da composição de semente, cachopas, folhas e galhos do urucueiro. In: Seminário Internacional de corantes naturais para alimentos, 2, Campinas, SP, **Resumos...**, Campinas, SP, 1991.

CARVALHO P. R.; PITA, M. C. G.; PIBER-NETO, E.; MIRANDOLA, R. M. S.; MENDONÇA JR, C. X. Influência de adição de fontes marinhas de carotenóides à dieta de galinhas poedeiras na pigmentação de gema de ovos. **Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science**, n. 43, v. 5, p. 654-663, 2006.

CHAU, C.; CHEUNG, K.; WONG, Y. Functional properties of protein concentrate from three Chinese indigenous legume seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 45, p. 2500-2503, 1997.

CIE. (1986) **CIE Publications**. 15.2.CIE, Vienna, Austria.

CUNHA, F. G. **Estudo da extração mecânica de bixina das sementes de urucum com leite de jorro**. 92 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia - MG, 2008.

DEMCZUK JR., B.; NAKAMURA, A. M.; IZIDORO, D. R.; RIBANI, R. H. Utilização de Análise Multivariada na Caracterização de Farelo de Urucum. In: ICBF 2010/ENCONTRO REGIONAL SUL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, X, 2010, Curitiba, PR. **Anais...** Curitiba, PR, 2010.

DENCH, J. E.; RIVAS, R. N.; CAYGIL, J. C. Selected functional properties of sesame (*Sesame indicum* L.) flour and two protein isolates. **Journal of Science and Food Agriculture**, v. 32, p. 557-564, 1981.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: Princípios e prática**. 2. ed. Artmed: Porto Alegre, 2006.

FONTANARI, G. G.; JACON, M. C.; PASTRE, I. A.; FERTONANI, F. L.; NEVES, V. A.; BATISTUTI, J. P. Isolado protéico de semente de goiaba (*Psidium guajava*): caracterização de propriedades funcionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n. 27(supl.), p. 73-79, ago. 2007.

FOUST, A. S.; WENZEL, L. A.; CLUMP, C. W.; MAUS, L.; ANDERSON, L. B. **Princípios das operações unitárias**. 2. ed. Guanabara Dois: Rio de Janeiro, 1982.

HARDER, M. N. C.; SPADA, F. P.; SAVINO, V. J. M.; COELHO, A. A. D.; CORRER, E.; MARTINS, E. Coloração de cortes cozidos de frangos alimentados com urucum. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n. 30, v. 2, p. 507-509, 2010.

HUNTERLAB. **What is color and how is measured**. Applications Note, v. 12, n. 5, p.1-8, 2000.

KHATTAB, R. Y.; ARNTFIELD, S. D. Functional properties of raw and processed canola meal. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, p. 1119-1124, 2009.

KILL, J. L.; SILVEIRA, E. R.; SILVA, F. C. O.; HAESE, D.; BUNZEN, S.; BELISÁRIO, J. A.; LOPES, T. B. V. Valor nutritivo do resíduo de sementes processadas de urucum para suínos em crescimento. In: ZOOTECA 2005, Campo Grande, MS. **Anais...**, Campo Grande. MS, 2005.

KIOKIAS, S.; GORDON, M. H. Antioxidant properties of annatto carotenoids. **Food Chemistry**, n. 83, p. 523-529, 2003.

LIMA, R. J. C. M.; MORENO, A. J. D.; CASTRO, S. F. L.; GONÇALVES, J. R. S.; OLIVEIRA, A. B.; SASAKI, J. M.; FREIRE, P. T. C. Taninos hidrolisáveis em *Bixa orellana* L. **Química Nova**, n. 29, v. 3, p. 507-509., 2006

MONGEAU, R.; BRASSARD, R. Insoluble dietary fibre from breakfast cereals and brands, bile salt binding and water holding capacity in relation to particle size. **Cereal Chemistry**, n. 59, v. 5, p. 413-415, 1982.

MARTEL, J. H. I.; FERRAUDO, A. S.; MÔRO, J. R.; PERECIN, D. Estatística multivariada na discriminação de raças amazônicas de pupunheiras (*Bactris gasipaes* Kunth) em Manaus (Brasil). **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 115-118, abril, 2003.

PASCHOINI, J. R. **Nutricum: a proteína e o corante natural do urucum**. São Sebastião do Paraíso: Paschoini Agro Ltda, 2000, 7 p.

QUEIROZ, E. A. **Níveis de farelo de urucum (Bixa orellana L.) em rações à base de sorgo para poedeiras comerciais**. 27 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, 2006.

RAGHAVENDRA, S. N.; RAMACHANDRA SWAMY, S. R.; RASTOGI, N. K.; RAGHAVARAO, K. S. M. S.; KUMAR, S.; THARANATHAN, R. N. Grinding characteristics and hydration properties of coconut residue: a source of dietary fiber. **Journal of Food Engineering**, v. 72, p. 281-286, 2006.

RIOS, A. O.; MERCADANTE, A. Z.; BORSARELLI, C. D. Triplet state energy of the carotenoid bixin determined by photoacoustic calorimetry. **Dyes and Pigments**, n. 74, p. 561-565, 2007.

SILVA, J. H. V.; ALBINO, L. F. T.; GODÓI, M. J. S. Efeito do extrato de urucum na pigmentação de gema de ovos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 5, p. 1435-1439, 2000.

SILVA, J. H. V.; SILVA, E. L.; JORDÃO FILHO, J.; RIBEIRO, M. L. G.; COSTA, F. G. P. Resíduo da semente de urucum (*Bixa orellana* L.) como corante da gema, pele, bico e ovário de poedeiras avaliado por dois métodos analíticos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 5, p. 988-994, set./out., 2006.

STRINGHETA P. C., SILVA P. I. **Pigmentos de urucum: extração, reações químicas, usos e aplicações**, Suprema: Viçosa, Minas Gerais, 2008.

TOCCHINI, L.; MERCADANTE, A. Z. Extração e determinação, por CLAE, de bixina e norbixina em coloríficos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n. 21, p. 310-313, 2001.

TONANI, F. **Estudo do valor nutritivo da semente de urucum (*Bixa orellana* L.) e seu efeito sobre o desempenho de bovinos de corte**. Jaboticabal: FCAV/UNESP, Departamento de Zootecnia de Não Ruminantes, 1995. 11 p. (Parecer técnico).

UTIYAMA, C. E. **Utilização do resíduo de sementes processadas de urucum (*Bixa orellana* L.) na alimentação de suínos em crescimento**. 43 p. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, São Paulo, 2001.

WANG, S. H.; ROCHA, G. O; NASCIMENTO, T. P.; ASCHERI, J. L. R.. Absorção de água e propriedades espumantes de farinhas extrusadas de trigo e soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n. 26, v. 2, p. 475-481, abr.-jun., 2006.

WATT, B.; MERRILL, A.L. **Composition of Foods: Raw, Processed, Prepared, USDA Nutrient Data Laboratory**. Bethesda, MD: USDA, 1999.

WURTS, M. L.; TORREBLANCA, R. A. Analisis de la semilla *Bixa orellana* L. (Achiote) y del desecho generado em la extraccion de sus pimientos. **Archivos Lationamericanos de Nutrición**, v. 33, n. 3, p. 606-619, 1983.

ZAMBRANO, M. L.; MELÉNDEZ, R.; GALLARDO, Y. Propiedades funcionales y metodología para su evaluación en fibra dietética. In F. M. LAJOLO, F. SAURACALIXTO, E. WITTING, & WENZEL DE MENEZES (Eds.), **Fibra dietética en Iberoamérica: Tecnología y Salud. Obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación em alimentos** (pp. 195 e 209). São Paulo, Brasil: Livraría LTDA, 2001.

## **CAPÍTULO 5**

### **EFEITO DAS CONDIÇÕES AMBIENTAIS NAS CARACTERÍSTICAS DO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM**

Artigo original em inglês aceito para publicação na revista QUALITY ASSURANCE  
AND SAFETY OF CROPS & FOODS

ISSN: 1757-837X

JCR: 0,642

## RESUMO

O processamento das sementes de urucum gera um subproduto de baixo custo, conhecido como farelo da semente de urucum (FSU). Devido aos seus significantes níveis de bixina, um antioxidante natural, o FSU pode ser usado como suplemento de ração animal. Como um produto de baixo teor de umidade, é importante o conhecimento de informações sobre seu comportamento higroscópico, alterações durante o armazenamento, escolha do material de embalagem e projeto de equipamentos de secagem. O comportamento higroscópico do FSU foi estudado a 25 °C e 35 °C através do uso do método estático com soluções salinas saturadas. Durante o armazenamento sob diferentes umidades relativas do ar, também foram avaliados o calor isostérico de sorção do FSU, o teor de bixina e os parâmetros de cor. As isotermas exibiram comportamento do tipo III e o modelo de Kühn ajustou-se adequadamente aos dados de equilíbrio de umidade do FSU. Acima de 75% de umidade relativa do ar, foi observado aglomeração, escurecimento e desenvolvimento de fungos. O calor isostérico de sorção diminuiu com o aumento do teor de umidade. Uma vez atingido o equilíbrio, as perdas de bixina (aproximadamente 43% do conteúdo inicial) e as alterações de cor foram mais significativas a 35 °C, especialmente na umidade relativa de 68%.

**Palavras-chave:** isotermas, *Bixa orellana*, resíduo, bixina, cor.

**ABSTRACT**

The processing of annatto seeds yields a low cost by-product known as annatto seed by-product (ASB). Due to its remarkable bixin levels, which is a natural antioxidant, the ASB could be used in animal feed supplementation. As a low moisture product, it is important to know information about hygroscopic behavior, changes during storage, package selection and drying equipment design. The ASB hygroscopic behavior was studied at 25 °C and 35 °C by using saturated salt solutions and the static method. During storage with different relative air humidities, the ASB isosteric heat of sorption, bixin content and instrumental color parameters were evaluated. The isotherms exhibited type III behavior and the Kühn model properly fitted the ASB equilibrium moisture data. Above 75% air relative humidity, it was observed agglomeration, darkening and fungal development. The isosteric heat of sorption decreased with an increase in moisture content. Once the equilibrium was established, bixin losses (approximately 43% of the content) and color changes were more prominent at 35 °C, especially under 68% relative humidity.

**Keywords:** isotherm; *Bixa orellana*; by-product; bixin; color



## 1 INTRODUÇÃO

O urucum (*Bixa orellana*, L.) é um arbusto tropical cujas sementes são recobertas pelo carotenoide vermelho chamado bixina. Os corantes naturais mais usados pelas indústrias são obtidos a partir da bixina (Carvalho, 1999). De acordo com Stringheta e Silva (2008), existem três métodos comerciais para extração da bixina das sementes: por imersão em soluções alcalinas (mais utilizado), óleo vegetal e solventes orgânicos.

O processamento das sementes de urucum origina um subproduto de baixo custo que é descartado pelas indústrias. Depois de seco e moído, o farelo das sementes de urucum (FSU) pode ser reutilizado como adubo em plantações e como suplemento de ração animal. Bressani *et al.* (1983) reportaram um alto nível de proteínas, fibras e fósforo e Demczuk Jr. *et al.* (2010) encontraram níveis significantes do carotenoide bixina no RSU.

Os carotenoides do urucum são importantes devido suas propriedades antioxidantes (KIOKIAS; GORDON, 2003). Lima *et al.* (2006) relataram a presença de substâncias com atividade anti-inflamatória nas sementes de *Bixa orellana*. Um grande número de estudos foi conduzido para descrever a influência de carotenoides na dieta animal. Carvalho *et al.* (2006) estudaram a pigmentação de gema de ovos através da adição de fontes de carotenoides na dieta de galinhas poedeiras. Harder *et al.* (2010) relataram que o uso de urucum aumentou a pigmentação de cortes de peito de frango. Utiyama (2001) estudou o uso de FSU como um ingrediente alternativo para ração de suínos em crescimento. Queiroz (2006) avaliou o efeito de FSU como agente de pigmentação de gema de ovo em galinhas poedeiras comerciais.

Os dados de equilíbrio higroscópico de produtos agrícolas, especialmente os de baixo teor de umidade, são de importância considerável. Portanto, muitos trabalhos já foram conduzidos com o objetivo de expressar o teor de umidade de equilíbrio como função da umidade relativa do ar e da temperatura.

A forma mais comum de descrever a capacidade dos alimentos de ceder ou absorver água é através das isotermas de sorção. Com o estudo das isotermas, também é possível projetar, otimizar e modelar processos de secagem, prever o crescimento de micro-organismos, a vida útil durante o armazenamento e escolher o

material de embalagem adequado (SAMAPUNDO *et al.*, 2007).

As propriedades termodinâmicas dos alimentos fornecem um conhecimento das propriedades da água e da energia necessária ao comportamento de sorção. O calor diferencial de sorção, também conhecido como calor isostérico de sorção, é usado como indicador do estado da água absorvida por partículas sólidas (GOULA *et al.*, 2008). Por ser expresso em função da umidade de equilíbrio do produto, o parâmetro serve para estimar as necessidades energéticas do processo de secagem (WANG; BRENNAM, 1991).

A partir da importância do conhecimento higroscópico dos alimentos e das necessidades energéticas do processo de secagem, incluindo materiais com componentes termossensíveis, este trabalho teve como objetivo a obtenção experimental de isotermas de adsorção de umidade para o farelo de semente de urucum através do método estático a 25 °C e 35 °C.

Foram também estudados os modelos matemáticos capazes de representar o comportamento da adsorção de umidade e estimar o limite crítico de umidade para armazenamento, realizadas medidas dos parâmetros de cor instrumental ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) e determinação da composição química e dos teores de bixina.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 FARELO DA SEMENTE DE URUCUM

O FSU foi fornecido pela Paschoini Agro (São Sebastião do Paraíso - MG), permanecendo armazenado em congelador (-18 °C) até o momento da utilização, para evitar perdas nos teores de bixina. O material triturado (3 a 75 x10<sup>-3</sup> mm de diâmetro) foi classificado granulometricamente em sistema vibratório e conjunto de peneiras com o objetivo de padronizar as amostras utilizadas no experimento.

### 2.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA

#### 2.2.1 Teor de umidade

O conteúdo de umidade do FSU (g de água.100 g<sup>-1</sup> de sólido seco) foi determinado por secagem durante 24 h em estufa a 105 °C (AOAC, 2010).

#### 2.2.2 Teor de cinzas e minerais

As cinzas foram determinadas após incineração das amostras em mufla a 550 °C (AOAC, 2010). As concentrações de minerais (Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, Na, Zn) foram avaliadas pela técnica de Espectrometria de Emissão Ótica por Plasma Acoplado (ICP-OES) (AOAC, 2010).

#### 2.2.3 Lipídios

O teor de lipídios totais foi determinado pelo método de Soxhlet, usando como solvente éter de petróleo a 40 °C (AOAC, 2010).

#### 2.2.4 Proteínas

O conteúdo de proteínas foi determinado pelo procedimento de Kjeldahl usando 6,25 como fator de conversão para o nitrogênio (AOAC, 2010).

### 2.2.5 Fibras

O método enzimático-gravimétrico foi usado para determinar o teor de fibra dietética, de acordo com AOAC (2010).

### 2.2.6 Carboidratos

O conteúdo total de carboidratos foi determinado subtraindo os valores de umidade, proteínas, lipídeos, fibra e cinzas (%) de cem (100).

## 2.3 DETERMINAÇÃO EXPERIMENTAL DOS DADOS DE UMIDADE DE EQUILÍBRIO

O farelo da semente de urucum foi previamente desidratado em estufa com circulação de ar a 40 °C até massa constante.

A metodologia para obtenção dos dados experimentais foi adaptada do procedimento estático proposto por Kimura e Maeda (1993), que utilizaram potes plásticos hermeticamente fechados, com umidade relativa constante. Soluções salinas saturadas foram usadas para criar atmosferas com umidade relativa controlada, de acordo com Kitic *et al.* (1986) e Greenspan (1997) (Tabela 5.1).

TABELA 5.1 - ATIVIDADE DE ÁGUA DE SOLUÇÕES SALINAS NAS TEMPERATURAS DE ESTUDO

SAL	ATIVIDADE DE ÁGUA	
	25 °C	35 °C
Cloreto de lítio (LiCl)	0,11	0,11
Cloreto de magnésio (MgCl <sub>2</sub> . 6 H <sub>2</sub> O)	0,32	0,32
Carbonato de potássio (K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )	0,43	0,43
Nitrato de magnésio [Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ]	0,53	0,50
Nitrito de sódio (NaNO <sub>2</sub> )	0,64	0,68
Cloreto de sódio (NaCl)	0,75	0,75
Cloreto de potássio (KCl)	0,84	0,82

FONTE: KITIC *et al.* (1986); GREENSPAN (1997).

Três amostras de FSU (10 g e 5 mm de espessura) foram dispostas em recipientes de alumínio com 40 mm de diâmetro. Os recipientes foram acondicionados em potes (170 mm x 170 mm x 120 mm) contendo as soluções saturadas, os quais foram fechados e colocados em uma estufa incubadora

operando a  $25 \pm 1$  °C ou  $35 \pm 1$  °C (Figura 5.1). A massa das amostras foi monitorada até atingirem o equilíbrio gravimétrico. Com a finalidade de verificar a confiabilidade dos resultados, o ensaio foi repetido nas mesmas condições.



a)



b)

FIGURA 5.1 – a) ACONDICIONAMENTO DAS AMOSTRAS DE FSU EM POTES CONTENDO SOLUÇÃO SATURADA; b) DISPOSIÇÃO DOS POTES FECHADOS EM ESTUFA INCUBADORA

## 2.4 ANÁLISE DOS DADOS DE UMIDADE DE EQUILÍBRIO

A predição do comportamento higroscópico do FSU foi realizada através da utilização de modelos matemáticos teóricos (Tabela 5.2), propostos por diversos autores (LEWICKI, 2008).

TABELA 5.2 – MODELOS MATEMÁTICOS UTILIZADOS PARA AJUSTAR OS DADOS DE UMIDADE DE EQUILÍBRIO DO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM

MODELO	EQUAÇÃO
BET (Brunauer, Emmet, Teller)	$U_{eq} = x_m C a_w / [(1 - a_w)(1 + (C - 1)a_w)]$
GAB (Guggenheim, Anderson, DeBoer)	$U_{eq} = (x_m C K a_w) / [(1 - K a_w)(1 - K a_w + C K a_w)]$
Lewicki	$U_{eq} = A [(1/a_w) - 1]^{B-1}$
Kühn	$U_{eq} = K (1/a_w)^{-Z} - B$
Kühn simplificada	$U_{eq} = (k_1 / \ln a_w) + k_2$

Onde:

$U_{eq}$  = conteúdo de umidade de equilíbrio (g de água.g de matéria seca<sup>-1</sup>);  
 $x_m$  = conteúdo de umidade na monocamada (g de água.g de matéria seca<sup>-1</sup>);  
 $a_w$  = atividade de água;  
 $A, B, C, n, K, k_1, k_2$  = constantes das equações.

Para verificar a qualidade do ajuste de cada modelo matemático, foi realizada

análise de regressão não-linear, através do método de Gauss-Newton, utilizando o programa computacional STATISTICA 7.0. A seleção dos modelos ocorreu de acordo com o coeficiente de determinação ( $R^2$ ), do erro percentual ( $P$ ) e do erro padrão ( $SE$ ), calculados conforme definido a seguir:

$$P(\%) = \frac{100}{N} \sum \left( \frac{|Y - \hat{Y}|}{Y} \right) \quad (\text{Eq. 5.1})$$

$$SE = \left[ \frac{\sum (Y - \hat{Y})^2}{N - p} \right]^{0.5} \quad (\text{Eq. 5.2})$$

Onde  $Y$  e  $\hat{Y}$  são os valores de umidade de equilíbrio experimental e calculados pelo modelo, respectivamente,  $N$  é o número de dados experimentais e  $p$  é o número de constantes no modelo. Um modelo é considerado aceitável se o valor de  $P$  for menor que 10%, se apresentar alto valor de  $R^2$  e baixos valores de  $SE$  (LEWICKI, 2008).

## 2.5 CÁLCULO DO CALOR ISOSTÉRICO DE SORÇÃO

O calor isostérico de sorção ( $H_{ST}$ ), definido por Samapundo *et al.* (2007) como o calor total de sorção da água do alimento menos o calor de vaporização da água, foi calculado através da forma integrada da equação de Clausius Clapeyron:

$$H_{ST} = \frac{RT_1T_2}{T_2 - T_1} \ln \frac{a_{w2}}{a_{w1}} \quad (\text{Eq. 5.3})$$

onde  $R$  é a constante universal dos gases ( $8,314 \times 10^{-3} \text{ kJ.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ ) e  $a_{w2}$  e  $a_{w1}$  são as atividades de água nos valores de temperatura  $T_2$  (35 °C) e  $T_1$  (25 °C), respectivamente.

## 2.6 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE BIXINA POR CLAE

A extração do pigmento das amostras do farelo de semente de urucum, a cada ponto de umidade relativa, seguiu o procedimento descrito por Tocchini e Mercadante (2001). Antes das análises cromatográficas, as amostras, preparadas em triplicata, foram filtradas em membrana (PTFE) de 0,22  $\mu\text{m}$  de diâmetro de poro.

Foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu, controlado pelo Software Class-VP, equipado com injetor manual Rheodyne. Foram usados uma coluna Synergi (3,9 x 150 mm, 4  $\mu\text{m}$ ), uma bomba (LC-10AD) e um detector UV-Vis (SPD-10A). As demais condições experimentais foram: volume de injeção de 20  $\mu\text{L}$ , comprimento de onda de 470 nm e vazão de 1  $\text{mL min}^{-1}$ .

Os solventes de grau cromatográfico, acetonitrila:ácido acético 2% (65:35), conforme Scotter *et al.* (1994), foram previamente filtrados em membrana de 0,45  $\mu\text{m}$  de poro antes de serem utilizados.

A quantificação de bixina foi realizada por padrão externo a partir da curva analítica construída pela injeção em triplicata da solução padrão de trabalho em cinco concentrações diferentes, baseadas nas faixas esperadas dos seus teores nas amostras. O padrão de bixina (99,8% de pureza) utilizado na análise foi obtido conforme metodologia proposta por Rios, Mercadante e Borsarelli (2007).

## 2.7 COR INSTRUMENTAL

Os parâmetros de cor das amostras foram medidos com um espectrofotômetro Hunter Lab Mini Scan XE Plus (Reston, VA, EUA). O instrumento, equipado com iluminante D65/10°, foi calibrado utilizando uma placa preta e uma cerâmica padrão branca ( $X = 78,9$ ,  $Y = 83,9$ ,  $Z = 88,9$ ). O eixo  $L^*$  representa a luminosidade, de 0 (preto) a 100 (branco). O parâmetro  $a^*$  expressa o eixo verde/vermelho ( $-a^*/a^*$ ) e  $b^*$ , o eixo azul/amarelo ( $-b^*/b^*$ ) (CIE, 1996).

## 2.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Os resultados obtidos nos experimentos foram analisados estatisticamente pelo programa MSTAT-C, versão 2.10 (MICHIGAN STATE UNIVERSITY, 1989).

Essa avaliação teve como objetivo fornecer os valores das médias, desvios padrão, a ocorrência de diferenças significativas e as comparações múltiplas entre as médias através da Análise de Variância (ANOVA) e do Teste de Tukey.



### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ensaio de distribuição granulométrica do FSU mostrou que a maioria das partículas retidas nas peneiras mediram entre  $805$  e  $425 \times 10^{-3}$  mm. Portanto, partículas com tais dimensões foram escolhidas para os experimentos seguintes.

A fibra dietética foi o principal componente ( $42 \text{ g.100 g}^{-1}$ ) encontrado no FSU. Outros componentes incluíram: carboidratos,  $27,21 \text{ g.100 g}^{-1}$ ; proteínas,  $11,94 \text{ g.100 g}^{-1} \pm 0,13$ ; cinzas,  $5,65 \text{ g.100 g}^{-1} \pm 0,21$  e lipídios  $1,84 \text{ mg.100 g}^{-1} \pm 0,04$ . Os resultados mostraram que o FSU é uma boa fonte de minerais: cálcio,  $194,03 \text{ mg.100 g}^{-1} \pm 1,68$ ; cobre,  $1,56 \text{ mg.100 g}^{-1} \pm 0,11$ ; ferro,  $5,97 \text{ mg.100 g}^{-1} \pm 0,57$ ; fósforo  $336,85 \text{ mg.100 g}^{-1} \pm 4,71$ ; magnésio  $304,79 \text{ mg.100 g}^{-1} \pm 1,22$ ; manganês,  $9,35 \text{ mg.100 g}^{-1} \pm 0,30$ ; potássio,  $2285,12 \text{ mg.100 g}^{-1} \pm 23,02$ ; sódio,  $7,87 \text{ mg.100 g}^{-1} \pm 1,94$  e zinco,  $28,06 \text{ mg.100 g}^{-1} \pm 0,57$ .

O teor de umidade inicial do FSU foi de  $1,14 \text{ g.100 g}^{-1}$ . O equilíbrio gravimétrico foi atingido após 53 e 28 dias quando os experimentos foram conduzidos a  $25^\circ\text{C}$  e  $35^\circ\text{C}$ , respectivamente.

Os dados de equilíbrio de umidade para o FSU obtidos a  $25^\circ\text{C}$  e  $35^\circ\text{C}$  são mostrados na Figura 5.1.

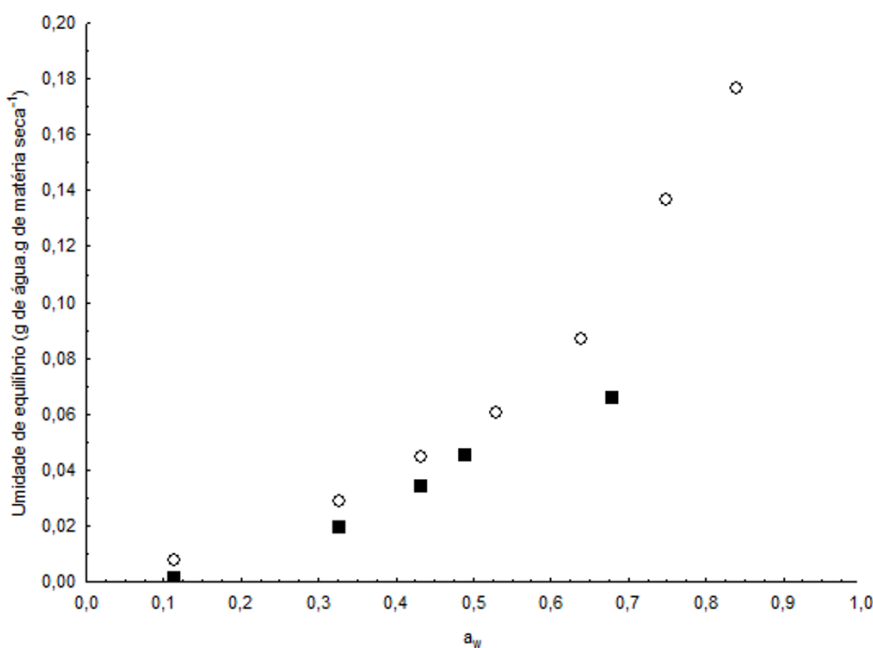


FIGURA 5.1 – EQUILÍBRIO HIGROSCÓPICO DE FARELO DE SEMENTE DE URUCUM A  $25^\circ\text{C}$  (○) e  $35^\circ\text{C}$  (■) EM DIFERENTES UMIDADES RELATIVAS

Os dados experimentais sugerem que a atividade de água constante e o teor de umidade de equilíbrio decrescem com o aumento da temperatura. Tal comportamento pode ser atribuído a uma redução no número de sítios ativos disponíveis para ligações com a água, resultando em alterações físico-químicas na matriz alimentícia que podem ser induzidas pelo aumento da temperatura (GOULA *et al.*, 2008).

Lima *et al.* (2000) encontraram valores de umidade de equilíbrio de 13,3 g.100 g<sup>-1</sup> para sementes de urucum inteiras armazenadas a 25 °C sob uma atividade de água de 0,86. No presente trabalho, foi encontrado 17,7 g.100 g<sup>-1</sup> de umidade de equilíbrio a 25 °C sob atividade de água de 0,84. Essa diferença pode ser atribuída ao reduzido tamanho das partículas do FSU quando comparado com as sementes de urucum inteiras. Chinnan e Beuchat (1985) observaram um comportamento similar quando compararam grãos-de-bico inteiros e na forma de farinha.

Em ambas as temperaturas de trabalho, observou-se visualmente que nas amostras armazenadas a altas umidades relativas (acima de 64%) ocorreu aglomeração e escurecimento. As amostras armazenadas a 35 °C (75% e 84% de umidade relativa) apresentaram crescimento de bolores e foram descartadas antes de atingir a umidade de equilíbrio.

Na Tabela 5.3 são mostrados os parâmetros dos diferentes modelos utilizados para ajustar os dados de umidade relativa para o FSU sob diferentes umidades relativas e temperaturas.

TABELA 5.3 – PARÂMETROS CALCULADOS,  $R^2$ ,  $P$  (%) E  $SE$  PARA AJUSTE DOS DADOS DE EQUILÍBRIO DE UMIDADE DE FARELO DE SEMENTE DE URUCUM COM MODELOS MATEMÁTICOS SELECIONADOS A DUAS TEMPERATURAS

MODELO	25 °C				
	PARÂMETRO	$R^2$	$P$ (%)	$SE$	DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS
BET	$x_m = 0,383$ $C = 0,245$	0,981	0,124	$8,084 \times 10^{-3}$	Sistemática
GAB	$x_m = 2,932$ $C = 0,033$ $K = 0,582$	0,992	0,050	$5,283 \times 10^{-3}$	Randomizada
Lewicki	$A = 0,057$ $B = 0,299$	0,980	0,127	$8,2 \times 10^{-3}$	Sistemática
Kühn	$k = 0,256$ $z = 2,531$ $B = -0,010$	0,991	0,060	$5,798 \times 10^{-3}$	Randomizada
Kühn simplificado	$k_1 = -0,031$ $k_2 = 0,006$	0,953	0,308	$12,74 \times 10^{-3}$	Sistemática
	35 °C				
	PARÂMETRO	$R^2$	$P$ (%)	$SE$	DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS
BET	$x_m = 0,074$ $C = 0,650$	0,980	0,015	$3,385 \times 10^{-3}$	Sistemática
GAB	$x_m = 3,517$ $C = 0,020$ $K = 0,581$	0,984	0,011	$3,106 \times 10^{-3}$	Sistemática
Lewicki	$A = 0,039$ $B = 0,079$	0,978	0,016	$3,520 \times 10^{-3}$	Sistemática
Kühn	$k = 0,140$ $z = 1,586$ $B = 0,004$	0,997	0,002	$1,405 \times 10^{-3}$	Randomizada
Kühn simplificado	$k_1 = -0,036$ $k_2 = -0,013$	0,984	0,012	$3,034 \times 10^{-3}$	Sistemática

Todos os modelos selecionados mostraram bom ajuste ( $P$  menor que 10% e variando de 0,002 a 0,308). Os valores de  $R^2$  variaram de 0,953 a 0,997 e  $SE$  de  $1,405 \times 10^{-3}$  a  $12,74 \times 10^{-3}$ . O modelo de Kühn apresentou o melhor ajuste aos dados experimentais.

No presente trabalho, o modelo de GAB foi o que melhor representou os dados de equilíbrio de umidade a 25 °C. De acordo com Timmermann, Chirife e Iglesias (2001), o modelo de GAB foi recomendado como fundamental para representar dados de sorção de umidade pelo *European Project Group COST 90 on Physical Properties of Food*. Tal recomendação foi feita com base na capacidade do modelo de GAB de representar adequadamente os dados em uma ampla faixa de atividade de água em alimentos (entre 0,1 e 0,9). Os mesmos autores estabeleceram que a constante  $k$  do modelo de GAB determina o perfil da isoterma

a altas atividades de água, regulando a inclinação após a faixa intermediária de atividade de água. Altos valores de  $k$  determinam inclinações significantes.

O conteúdo de umidade da monocamada ( $x_m$ ) pareceu ser mais apropriadamente predito pelo modelo de GAB (Tabela 5.3). Tal conclusão foi tomada levando em conta os valores de  $R^2$  e a consideração feita por Salwin (1963), que estabeleceu que o modelo de BET não é apropriado para predição do conteúdo de umidade na monocamada para isothermas tipo III de Brunauer (LEWICKI, 2008), que é o caso do FSU. As isothermas com o comportamento tipo III são caracterizadas por um aumento significativo de umidade somente a altas pressões de vapor d'água ou a altas umidades relativas em uma dada temperatura. Essa classificação foi escolhida com base na forma dos dados obtidos e na classificação modificada proposta por Blahovec e Yanniotis (2009), com base na plotagem de  $a_w/U_{eq}$  versus  $a_w$ .

Os parâmetros de GAB (Tabela 5.3) para a isoterma tipo III de Brunauer estão de acordo com Blahovec (2004), ( $0 < k < 1$  e  $0 \leq C \leq 2$ ). Tais observações também foram encontradas no presente estudo. Depois de analisar 115 isothermas disponíveis em literatura, Blahovec e Yanniotis (2009) encontraram que somente uma pôde ser classificada como tipo III. Tal comportamento é comum em alimentos com alto teor de carboidratos, especialmente os amorfos, que absorvem pouca quantidade de água a baixas umidades relativas e absorvem grandes quantidades de água com um aumento constante na umidade relativa.

Na Figura 5.2 são apresentados os valores do calor isostérico de sorção ( $H_{ST}$ ) em função da umidade de equilíbrio a 30 °C. Ocorreu um aumento nos valores de calor isostérico de sorção com o decréscimo do conteúdo de umidade. A altos valores de umidade de equilíbrio (0,19 g de água.g de matéria seca<sup>-1</sup>), os valores do calor isostérico de sorção permaneceram constantes e próximos de zero. Portanto, o calor total de sorção corresponde ao calor de vaporização da água, que sugere a presença de água livre nestes valores de umidade de equilíbrio.

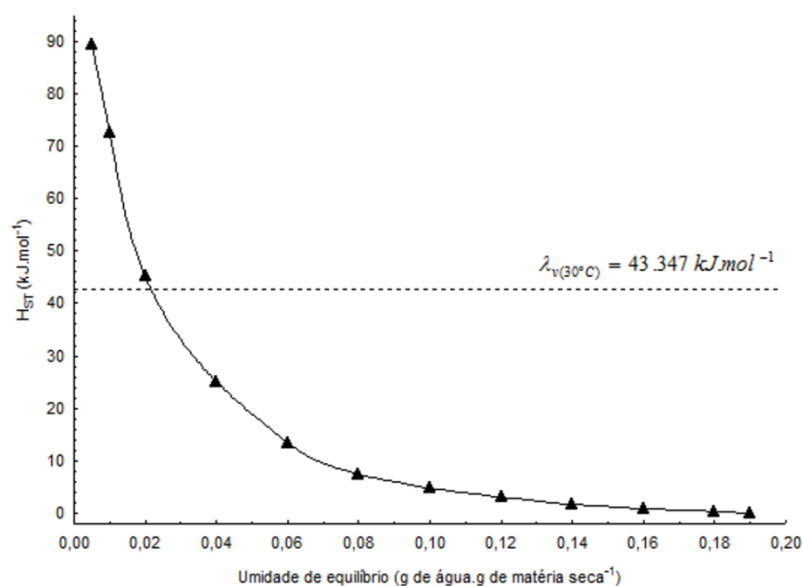


FIGURA 5.2 – EFEITO DA UMIDADE DE EQUILÍBRIO NO CALOR ISOSTÉRICO DE SORÇÃO PARA FARELO DA SEMENTE DE URUCUM  
 NOTA:  $\lambda_v$  = CALOR LATENTE DE VAPORIZAÇÃO DA ÁGUA

Goula *et al.* (2008) estabeleceram que o rápido aumento no calor isostérico de sorção sob baixos teores de umidade é devido ao fato de que, em estágios iniciais de sorção, existem sítios ativos altamente polares na superfície do alimento que são cobertos pela monocamada de água. Quando o conteúdo de umidade está abaixo do conteúdo de umidade da monocamada, é necessário fornecer grandes quantidades de energia para que a sorção aconteça. Com um aumento da umidade, os sítios menos ativos são cobertos pela água e a formação de multicamadas causa um decréscimo no calor isostérico de sorção (PÉREZ-ALONSO *et al.* 2006).

Conforme mostrado na Figura 5.2, a mudança na inclinação da curva coincide com o valor do conteúdo de umidade na monocamada (2,93 g de água.100 g de matéria seca<sup>-1</sup>). No presente estudo, não foi encontrada nenhuma observação que apresentasse dados similares para sementes de urucum. Entretanto, outros trabalhos tratando de sementes e suas respectivas farinhas mostram que há uma diferença entre seus valores de calor isostérico de sorção. Samapundo *et al.* (2007) encontraram um calor isostérico de sorção de 55 kJ.mol<sup>-1</sup> a 27,5 °C e 0,07 g de água.g de matéria seca<sup>-1</sup> para grãos de milho inteiros, enquanto Labuza, Kaanane e Chen (1985) reportaram um calor isostérico de sorção de 18,6 kJ.mol<sup>-1</sup> para farinha de milho.

Na Figura 5.3 são apresentados os teores de bixina no FSU obtidos por CLAE após armazenamento a 25 °C e 35 °C.

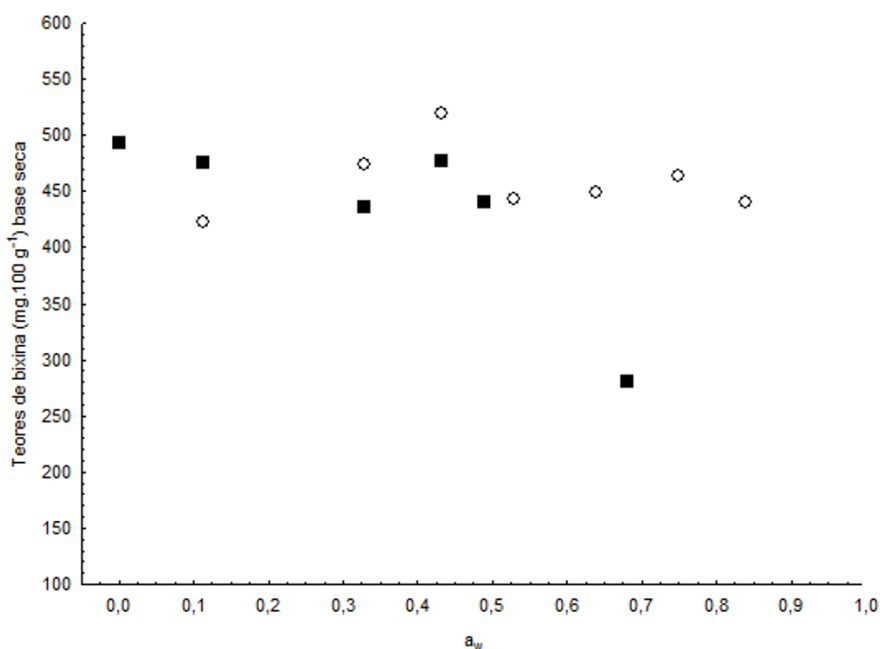


FIGURA 5.3 – TEORES DE BIXINA NO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM A 25 °C (○) e 35 °C (■) EM DIFERENTES UMIDADES RELATIVAS

A amostra inicial apresentou teores de bixina de aproximadamente 498.81 mg.100 g<sup>-1</sup>. Até então, o FSU ainda não tinha sido avaliado quanto aos seus teores de bixina. Contudo, os níveis de bixina detectados no presente estudo são maiores que os encontrados em colorífico por Tocchini e Mercadante (2001), (154-354 mg.100 g<sup>-1</sup>). A 25 °C e 11% de umidade relativa, os teores de bixina foram mais baixos entre os valores observados para esta temperatura. Tal comportamento pode estar relacionado à alta exposição da bixina ao oxigênio, causando oxidação. Sem o efeito protetor da água a baixas umidades relativas, a degradação dos lipídios é maior.

Enquanto a 25 °C os teores de bixina permaneceram praticamente constantes através do armazenamento, a 35 °C foi observado um decréscimo na concentração de bixina com um aumento da atividade de água, especialmente a 0,68.

De acordo com Belitz, Grosch e Schieberle (2008), um aumento na atividade de água faz com que os metais contidos nos alimentos movam-se mais livremente e possivelmente agirem como catalisadores da oxidação de lipídeos e carotenoides. Por outro lado, sob altas atividades de água, os metais encontram-se diluídos na matriz alimentícia, sendo impedidos de agir como catalisadores. Um comportamento

similar foi observado por Prado Filho (1994), que estudou o efeito da atividade de água na oxidação de farinhas de materiais oleaginosos. Ainda, a 0,68 de  $a_w$ , a diferença entre os teores de bixina a 25 °C e 35 °C pode ser explicada pela influência da temperatura na taxa de degradação dos carotenoides.

Na Tabela 5.4 são apresentados os parâmetros de cor para o FSU medidos após armazenamento a 25 °C e 35 °C.

TABELA 5.4 – PARÂMETROS DE COR CIE  $L^*a^*b^*$  DO FARELO DE SEMENTE DE URUCUM APÓS ARMAZENAMENTO A 25 °C E 35 °C SOB DIFERENTES UMIDADES RELATIVAS

PARÂMETROS DE COR						
	$L^*$		$a^*$		$b^*$	
$a_w$	25 °C	35 °C	25 °C	35 °C	25 °C	35 °C
Inicial	32,4 <sup>a</sup> ±0,5	32,4 <sup>a</sup> ±0,5	23,8 <sup>a</sup> ±0,3	23,8 <sup>a</sup> ±0,3	29,2 <sup>a</sup> ±0,2	29,2 <sup>a</sup> ±0,2
0,11	32,5 <sup>a</sup> ±0,4	32,4 <sup>a</sup> ±0,8	22,9 <sup>b</sup> ±0,2	23,2 <sup>a</sup> ±0,5	27,7 <sup>b</sup> ±0,6	27,9 <sup>ab</sup> ±1,1
0,32	32,6 <sup>a</sup> ±0,8	32,7 <sup>a</sup> ±0,4	23,0 <sup>b</sup> ±0,4	23,3 <sup>a</sup> ±0,4	27,6 <sup>b</sup> ±0,5	27,8 <sup>b</sup> ±0,3
0,43	32,3 <sup>a</sup> ±0,3	32,5 <sup>a</sup> ±0,3	23,0 <sup>b</sup> ±0,5	23,4 <sup>a</sup> ±0,2	27,4 <sup>b</sup> ±0,4	28,1 <sup>ab</sup> ±0,7
0,52	31,7 <sup>a</sup> ±0,7	32,2 <sup>a</sup> ±0,4	22,9 <sup>b</sup> ±0,7	23,4 <sup>a</sup> ±0,3	27,2 <sup>b</sup> ±0,8	27,7 <sup>b</sup> ±0,9
0,64	28,4 <sup>c</sup> ±1,9	28,9 <sup>b</sup> ±0,7	20,8 <sup>c</sup> ±0,5	17,6 <sup>b</sup> ±2,0	24,2 <sup>d</sup> ±0,8	21,8 <sup>c</sup> ±1,4
0,75	29,9 <sup>b</sup> ±0,3	-	23,1 <sup>b</sup> ±0,2	-	27,0 <sup>b</sup> ±0,1	-
0,84	29,7 <sup>b</sup> ±0,1	-	22,6 <sup>b</sup> ±0,2	-	25,9 <sup>c</sup> ±0,5	-

NOTA: LETRAS DIFERENTES NA MESMA COLUNA INDICAM DIFERENÇA ESTATISTICAMENTE SIGNIFICATIVA A UM NÍVEL DE CONFIANÇA DE 5%.

Após avaliar os parâmetros colorimétricos iniciais (CIE  $L^*a^*b^*$ ), pode-se concluir que o FSU apresentou cor laranja escura. Para ambas as temperaturas de armazenamento, foi observado um decréscimo na luminosidade ( $L^*$ ) e na cor vermelha ( $a^*$ ) com o aumento da atividade de água, sendo este comportamento mais intenso a 35 °C. Quando analisados em conjunto, os valores dos parâmetros CIE  $L^*a^*b^*$  mostram que o FSU escureceu com o aumento da umidade relativa de armazenamento. A 25 °C, o valor  $L^*$  permaneceu constante até a atividade de água de 0,52 ser atingida. Por outro lado, os valores  $a^*$  e  $b^*$  foram afetados pelo armazenamento mesmo a baixas atividades de água. Além disso, a 35 °C os valores de  $L^*$  e  $a^*$  não foram afetados até a atividade de água de 0,52 ser alcançada.

Contudo, a maior alteração na cor foi observada a 0,64 de  $a_w$  para as condições experimentais.

Tanto o escurecimento quanto o decréscimo na cor vermelha detectados a  $a_w = 0,68$  e  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$  foram maiores do que os observados para  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ , mesmo a altas atividades de água. Isso pode ser explicado pela diluição dos componentes oxidantes no material e esse comportamento é comprovado pela degradação da bixina sob condições similares.



#### 4 CONCLUSÕES

As condições experimentais avaliadas no presente estudo foram adequadas para elucidar o comportamento higroscópico do FSU. Os dados experimentais mostraram um decréscimo no conteúdo de umidade de equilíbrio com um aumento na temperatura sob atividade de água constante. As isothermas de sorção de umidade obtidas foram bem representadas pelo modelo de Kühn e enquadraram-se na classificação tipo III de Brunauer. Ocorreu um aumento no calor isostérico de sorção com um decréscimo no conteúdo de umidade. O FSU armazenado até 68% de umidade relativa e 25 °C manteve sua coloração original e também os teores de bixina.

## REFERÊNCIAS

AOAC. **Official methods of analysis of AOAC international**. 18. ed. Gaithersburg, 2010.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. **Food Chemistry**, 4. ed., p. 3-4, Springer Verlag: Berlim, 2008.

BLAHOVEC, J. Sorption isotherms in materials of biological origin mathematical and physical approach. **Journal of Food Engineering**, n. 65, p. 489-495, 2004.

BLAHOVEC, J. YANNIOTIS, S. Modified classification of sorption isotherms. **Journal of Food Engineering**, n. 91, p. 72-77, 2009.

BRESSANI, R.; PORTA-ESPAÑA DE BARNEÓN, F.; BRAHAM, J. E.; ELÍAS L. G.; GÓMEZ-BRENES, R. Chemical composition, amino acid content and nutritive value of the protein of the annatto seed (*Bixa orellana*, L.). **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, n. 33, p. 356-376, 1983.

CARVALHO P. R.; PITA, M. C. G.; PIBER-NETO, E.; MIRANDOLA, R. M. S.; MENDONÇA JR, C. X. Influência de adição de fontes marinhas de carotenóides à dieta de galinhas poedeiras na pigmentação de gema de ovos. **Bras. J. Vet. Anim. Sci.**, n. 43, v. 5, p. 654-663, 2006.

CARVALHO, P. R. N. Urucum: avanços tecnológicos e perspectivas. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**. v. 49, n. 1, 1999.

CHINNAN, M. S.; BEUCHAT, L. R. Sorption isotherms of whole cowpeas and flours. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, n. 18, p. 83-88, 1985.

CIE. **CIE Publications**. 15.2.CIE, Viena, Áustria, 1986.

DEMCZUK JR., B.; NAKAMURA, A. M.; IZIDORO, D. R.; RIBANI, R. H. Utilização de Análise Multivariada na Caracterização de Farelo de Urucum. In: ICBF 2010/ENCONTRO REGIONAL SUL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, X, 2010, Curitiba, PR. **Anais...** Curitiba, PR, 2010.

GOULA, A. M.; KARAPANTSIOS, T. D.; ACHILIAS, D. S.; ADAMOPOULOS, K. G. Water sorption isotherms and glass transition temperature of spray dried tomato pulp.

**Journal of Food Engineering**, n. 85, p. 73-83, 2008.

GREENSPAN, L. Humidity fixed points of binary saturated aqueous solutions. **Journal of Research of the National Bureau of Standard**, v. 81, n. 89-102, 1997.

HARDER, M. N. C.; SPADA, F. P.; SAVINO, V. J. M.; COELHO, A. A. D.; CORRER, E.; MARTINS, E. Coloração de cortes cozidos de frangos alimentados com urucum. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n. 30, v. 2, p. 507-509, 2010.

KIMURA, I. A.; MAEDA, M. Determinação de isotermas de adsorção de umidade: influência da concentração da solução e da variação no volume de recipiente. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n. 27, p. 79-87, 1993.

KIOKIAS, S.; GORDON, M. H. Antioxidant properties of annatto carotenoids. **Food Chemistry**, n. 83, p. 523-529, 2003.

KITIC, D.; JARDIM, D. C. P.; FAVETTO, G. J.; RESNIK, S. L.; CHIRIFE, J. Theoretical prediction of the water activity of standard saturated salt solutions of various temperatures. **Journal of Food Science**, n. 51, p. 1037-1041, 1986.

LABUZA T. P.; KAAANANE, A.; CHEN, J. Y. Effects of temperature on the moisture sorption isotherms and water activity shift of two dehydrated foods. **Journal of Food Science**, n. 50, p. 385–391, 1985.

LEWICKI, P. P. Data and Models of Water Activity. II: Solid Foods. In: RAHMAN, M. S. (Ed.) **Food Properties Handbook**, p. 73-141, CRC Press: Boca Raton, 2008.

LIMA, R. J. C. M.; MORENO, A. J. D.; CASTRO, S. F. L.; GONÇALVES, J. R. S.; OLIVEIRA, A. B.; SASAKI, J. M.; FREIRE, P. T. C. Taninos hidrolisáveis em *Bixa orellana* L. **Química Nova**, n. 29, v. 3, p. 507-509., 2006

LIMA, R. M.; COSTA, C. M. L.; FARIA, L. J. G. Isotermas de adsorção de umidade de sementes de urucum (*Bixa orellana* L.): Obtenção experimental e ajuste a modelos matemáticos. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, n. 4, p.19-26, 2000.

Michigan State University. **MSTAT-C**. v. 2.10, East Lansing, MI, MSDOS, 1989.

PÉREZ-ALONSO, C.; BERISTAIN, C. I.; LOBATO-CALLEROS, C.; RODRÍGUEZ-

HUEZO, M. E.; VERNON-CARTER, E. J. Thermodynamic analysis of the sorption isotherms of pure and blended carbohydrate polymers. **Journal of Food Engineering**, v. 77, p. 53-760, 2006.

PRADO FILHO, L. G. Umidade relativa de equilíbrio e oxidação de lipídeos em farelos de castanha do Pará, de macadâmia e soja. **Scientia Agricola**, n. 51, p. 357-362, 1994.

QUEIROZ, E. A. **Níveis de farelo de urucum (Bixa orellana L.) em rações à base de sorgo para poedeiras comerciais**. 27 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, 2006.

RIOS, A. O.; MERCADANTE, A. Z.; BORSARELLI, C. D. Triplet state energy of the carotenoid bixin determined by photoacoustic calorimetry. **Dyes and Pigments**, n. 74, p. 561-565, 2007.

SALWIN, H. Moisture levels required for stability in dehydrated foods. **Food Technology**, v. 17, 1114-1121, 1963.

SAMAPUNDO, S.; DEVLIEGHERE, F.; DE MEULENAER, B.; ATUKWASE, A.; LAMBONE, Y.; DEBEVERE, J. M. Sorption isotherms and isosteric heats sorption of whole yellow dent corn. **Journal of Food Engineering**, n. 79, p. 168-175. 2007.

SCOTTER, M. J.; THORPE, S. A.; REYNOLDS, S. L.; WILSON, L. A. STRUTT, P. R. Characterization of the principal colouring components of annatto using high performance liquid chromatography with photodiode-array detection. **Food Additives & Contaminants**, v. 11, p. 301-315, 1994.

STRINGHETA P. C., SILVA P. I. **Pigmentos de urucum: extração, reações químicas, usos e aplicações**, Suprema: Viçosa, Minas Gerais, 2008.

TIMMERMANN, E. O.; CHIRIFE, J.; IGLESIAS, H. A. Water sorption isotherms of foods and foodstuffs: BET or GAB parameters? **Journal of Food Engineering**, n. 48, p. 19-31, 2001.

TOCCHINI, L.; MERCADANTE, A. Z. Extração e determinação, por CLAE, de bixina e norbixina em coloríficos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n. 21, p. 310-313, 2001.

UTIYAMA, C. E. **Utilização do resíduo de sementes processadas de urucum (*Bixa orellana* L.) na alimentação de suínos em crescimento.** 43 p. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, São Paulo, 2001.

WANG, N.; BRENNAM, J. G. Moisture sorption isotherm characteristics of potato at four temperatures. **Journal of Food Engineering**, n. 14, 269-287, 1991.

## CONCLUSÃO GERAL

A Análise Estatística Multivariada permitiu distinguir grupos de similaridade entre cultivares de urucum produzidas no Paraná. As sementes da cultivar Piave apresentaram maiores níveis médios de bixina e lipídios. Os resultados obtidos podem ser utilizados para uma melhor exploração da produção estadual de urucum. Além do pagamento diferenciado aos produtores que fornecem sementes de melhor qualidade, as diferenças entre as matérias-primas podem servir para direcionamento na obtenção de corantes específicos, de acordo com o objetivo da indústria.

Foram obtidos padrões cromatográficos de bixina com pureza superior a 95% através das metodologias reproduzidas. A bixina armazenada imersa em etanol foi mantida estável por mais tempo que as amostras que não sofreram imersão e pode ser armazenada em temperaturas abaixo de 5 °C por até 45 dias sem alterações significativas.

O farelo da semente de urucum foi caracterizado como uma importante fonte de nutrientes e minerais. Além disso, os teores de bixina remanescentes no farelo mostraram que o resíduo apresenta potencial de utilização principalmente como matéria-prima na produção de ração animal, proporcionando fonte de renda alternativa para a cadeia produtiva do urucum.

Durante o estudo das características higroscópicas do farelo de semente de urucum, foi verificado que o material pode ser armazenado até 68% de umidade relativa em temperatura de 35 °C sem alterações na coloração original e nos teores de bixina.